

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1898

THÈSE

N°

170

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Jeudi 3 Février 1898

PAR

F. POMPEANI

Préparateur de Physiologie au Laboratoire de Toxicologie

TOXINE ET ANTITOXINE

DU

GONOCOQUE

(Étude critique et expérimentale)

Président : M. P. BROUARDEL.

Juges : MM. { CHANTEMESSE.
 { GILBERT ET NETTER.

PARIS

IMPRIMERIE GUÉRIN, DERENNE ET C^{ie}

7, RUE ROCHECHOUART, 7

1898

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1898

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Jeudi 3 Février 1898

PAR

F. POMPÉANI

Préparateur de Physiologie au Laboratoire de Toxicologie

TOXINE ET ANTITOXINE

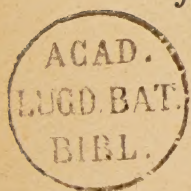
DU

GONOCOQUE

(Étude critique et expérimentale)

Président : M. P. BROUARDEL.

Juges : MM. { CHANTEMESSE.
GILBERT ET NETTER.



PARIS

IMPRIMERIE GUÉRIN, DERENNE ET Cie

7, RUE ROCHECHOUART, 7

1898

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Doyen	M. BROUARDEL
Professeurs	MM.
Anatomie	FARABEUF.
Physiologie	CH. RICHET.
Physique médicale	GARIEL.
Chimie organique et chimie minérale	GAUTIER.
Histoire naturelle médicale	BLANCHARD.
Pathologie et thérapeutique générales	BOUCHARD.
Pathologie médicale	{ HUTINEL. DEBOVE. LANNELONGUE.
Pathologie chirurgicale	
Anatomie pathologique	
Histologie	CORNIL.
Opérations et appareils	MATHIAS DUVAL.
Matière médicale et Pharmacologie	TERRIER.
Thérapeutique	POUCHET.
Hygiène	LANDOUZY.
Médecine légale	PROUST.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	BROUARDEL.
Pathologie comparée et expérimentale	LABOULBENE.
	CHANTEMESSE.
Clinique médicale	{ POTAIN. JACCOUD. HAYEM. DIEULAFOY. GRANCHER.
Clinique des maladies des enfants	
Clinique des maladies syphilitiques	
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale	
Clinique des maladies nerveuses	
	JOFFROY.
Clinique chirurgicale	{ RAYMOND. BERGER. DUPLAY. LE DENTU. TILLAUX.
Clinique ophtalmologique	
Clinique des voies urinaires	
Clinique d'accouchements	
	{ PANAS. GUYON. N. PINARD.

Agrégés en exercice.

MM.	MM.	MM.	MM.
ACHARD.	GILBERT.	MENETRIER.	THOINOT.
ALBARRAN.	GILLES DE LA	NELATON.	TUFFIER.
ANDRE.	TOURETTE.	NETTER.	VARNIER.
BAR.	GLEY.	POIRIER, chef des	WALTHER.
BONNAIRE.	HARTMANN.	travaux anatomiques.	WEISS.
BROCA.	HEIM.	RETTERRER.	WURTZ.
CHARRIN.	LEJARS.	RICARD.	
CHASSEVANT.	LETULLE.	ROGER.	
DELBET.	MARFAN.	SEBILEAU.	
GAUCHER.	MARIE.	THIERY.	

Secrétaire de la Faculté : M. Ch. PUPIN

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE

DE MON PREMIER ET REGRETTÉ MAÎTRE

LE DOCTEUR A. SICHEL

A MES PARENTS

MEIS ET AMICIS

A MES PREMIERS MAITRES DE MARSEILLE

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ DE PARIS

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

A MONSIEUR LE PROFESSEUR P. BROUARDEL

DOYEN DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

MEMBRE DE L'INSTITUT

COMMANDEUR DE LA LÉGION D'HONNEUR

A MONSIEUR LE PROFESSEUR S. DUPLAY

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

CHIRURGIEN DE L'HÔTEL-DE-DIEU

A MONSIEUR JULES OGIER

MEMBRE DU COMITÉ CONSULTATIF D'HYGIÈNE PUBLIQUE

DOCTEUR ES-SCIENCES

CHEF DU LABORATOIRE DE TOXICOLOGIE

A MONSIEUR LE DOCTEUR JOHN DE CHRISTMAS

~~~~~  
*Je dédie ce travail*



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

## AVANT PROPOS

---

*Arrivé au terme de mes études médicales, j'ai le devoir de remercier mes Maîtres, mes parents et ceux de mes amis qui n'ont cessé de me prodiguer des témoignages de bienveillance, d'affection et de sympathie.*

*Je tiens tout d'abord, essentiellement, à exprimer toute ma gratitude à mes Maîtres, les éminents Professeurs Brouardel et Duplay, et MM. les docteurs J. Ogier, Vibert, Descout et John de Christmas.*

*Je remercie M. le Professeur Brouardel de l'intérêt qu'il n'a cessé de me témoigner au cours de mes études, en m'ouvrant les portes de son Laboratoire, et de l'honneur, qu'il veut bien me faire, aujourd'hui, en daignant accepter la présidence de cette modeste thèse.*

*Quant à M. le Professeur Duplay, je ne trouve pas de mots qui puissent rendre toute ma pensée émue et reconnaissante. Je ne veux pas énumérer ici, Cher et Illustre Maître, les nombreuses et constantes marques de bonté dont vous n'avez cessé de me combler. Je me borne à vous prier de vouloir bien agréer l'hommage de ma reconnaissance, qui sera éternelle.*

*M. le Professeur Ogier, chef du Laboratoire de Toxicologie, n'a pas été seulement pour moi, le Maître distingué, que chacun sait. Il a bien voulu aussi, dans diverses circonstances, se montrer, à mon égard, bienveillant au delà de toute expression. Je ne puis l'oublier et je l'en remercie bien de tout cœur, respectueusement.*

*MM. les Professeurs Vibert, chef du Laboratoire d'Anatomie Pathologique et Descout, chef du Laboratoire de Médecine Légale, m'ont surtout facilité l'étude de la*

médecine légale, par leur enseignement pratique, lumineux et précis. Ils ne m'ont pas ménagé les conseils et les encouragements. Je leur dois une grande partie du peu que je sais. Je les remercie.

J'ai bien peur d'avoir abusé de l'extrême bienveillance de M. le docteur John de Christmas, dans le Laboratoire duquel j'ai puisé les éléments de ma thèse. C'est grâce à lui que je puis aujourd'hui présenter, à mes Maîtres, un travail dont tout l'honneur lui reviendra, au cas où il sera jugé intéressant.

M. le Professeur Duclaux, directeur de l'Institut Pasteur, nous a facilité l'exécution de notre thèse. Nous le remercions vivement de son amabilité à notre égard.

En terminant, je n'aurais garde d'oublier M. le docteur Bordas, sous-chef du Laboratoire Municipal, et mon cher collègue, M. Dié, préparateur au Laboratoire de Toxicologie, avec qui j'ai toujours entretenu des rapports de parfaite cordialité.

F. POMPÉANI.

Paris, 3 Février 1898.

---

# INTRODUCTION

---

La médecine moderne doit ses remarquables progrès à la découverte des *microbes*, des *toxines* et des *antitoxines*. Sans ces notions, l'étiologie, la pathogénie des maladies infectieuses sont impossibles à interpréter, leur traitement à instituer d'une façon rationnelle.

Introduit dans l'organisme, le microbe, sous l'influence de causes biologiques, physiques et chimiques, plus ou moins connues, secrète des poisons. Ceux-ci, toxines, agissent sur l'économie entière, y produisent « des désordres nutritifs, vaso-moteurs, caloriques, paralytiques, stupéfiants etc... qui, en se déroulant et en se succédant, forment le tableau de la maladie. » (1)

La cellule humaine se défend à son tour. Par un phénomène singulier désigné sous le nom de *chimiotaxie positive*, certaines toxines microbiennes confèrent à l'organisme la propriété d'attirer vers les microbes, les globules blancs (phagocytes). Une lutte s'engage avec les microorganismes : ceux-ci, grâce à la vitalité, aux mouvements amiboïdes des phagocytes et des cellules fixes du tissu conjonctif, sont incorporés, paralysés dans leurs effets, digérés : c'est la phagocytose ; les reins, l'intestin, la sueur, les poumons, éliminent les toxines. En même temps les diverses cellules animales, les phagocytes surtout, sécrètent une substance capable de contrarier, d'annihiler l'action des poisons microbiens : c'est l'antitoxine. Alors

---

(1) A. Gautier : Les Toxines microbiennes et animales.

l'organisme n'est plus intoxiqué, la maladie s'arrête dans sa marche, la guérison se réalise.

C'est là une issue heureuse ; mais il n'en est pas toujours ainsi. Par suite de circonstances diverses, si les toxines repoussent le mouvement microbien, si la *chimiotaxie* est négative, si la dose d'antitoxine n'est pas assez considérable pour neutraliser les effets des toxines, si d'autre part les microbes sortent vainqueurs de la lutte contre les phagocytes et les macrophages, la maladie suit son cours, le sujet succombe.

Là ne s'arrêtent pas les effets réciproques de la toxine et de l'antitoxine : dans certaines infections, l'organisme qui a subi une première atteinte, ne se laisse plus intoxiquer de nouveau. Ses cellules chaque fois qu'elle se trouvent, sous l'influence du même microbe, de la même toxine, deviennent aptes à fabriquer une antitoxine suffisante comme qualité, comme quantité, elles réagissent : la maladie est jugulée dès son début.

Bien plus, les humeurs, le sang, le sérum surtout de l'animal atteint une première fois déjà, de la même maladie infectieuse, peuvent, dans certains cas, chez un autre animal, vierge de cette affection, en empêcher le développement, en arrêter l'évolution, si on lui inocule le microbe de cette infection : ce sujet est *immunisé*.

L'idée d'étudier, d'expérimenter sous diverses formes, ces propriétés étranges des microbes et de leurs produits toxiques, a tenté bien des savants ; de là à appliquer ces notions dans un but thérapeutique, il n'y a eu qu'un pas : c'est la naissance de la sérothérapie, de la thérapeutique pathogénique, rationnelle, de la thérapeutique de l'avenir. C'est à ces études que se rattachent les noms de Pasteur, de ses élèves, de ses imitateurs, en France et à l'étranger ; de A. Gautier, Selmi, etc.

Etant donnée la spécificité de chaque maladie infectieuse, on chercha, naturellement, l'antitoxine, le sérum antitoxique de chaque microbe spécifique connu. Les résultats positifs obtenus dans la rage, la diphtérie, plus contestables dans le tétanos, la tuberculose, l'infection streptococcique, la peste, la fièvre jaune devraient pousser les expérimentateurs à faire des essais dans d'autres maladies infectieuses. L'infection gonococcique méritait ces études. Certes les lésions produites par les maladies infectieuses précédentes étaient nombreuses et graves : témoin le tribut effrayant que payait la diphtérie à la mortalité de tous les pays ; mais pourtant l'infection gonococcique est loin d'être dépourvue d'intérêt, soit au point de vue pathogénique, soit par

sa diffusion considérable, ses complications multiples portant sur presque tous les organes et les tissus, par la ténacité de ses lésions, les désordres souvent irréparables qu'elle occasionne. La résistance qu'elle oppose trop souvent à tout l'arsenal thérapeutique, fait le désespoir du malade et du médecin.

La découverte de Neisser en 1879, démontrant la spécificité de la blennorrhagie par la présence du gonocoque dans le pus urétral, suscita dans le monde savant, une multitude d'ouvrages, les uns sur la morphologie du gonocoque dans les préparations microscopiques, les autres sur son diagnostic différentiel avec les pseudo-gonocoques ; ici on s'occupe des milieux de culture les plus favorables à la vie de ce microorganisme, de l'aspect de ses cultures ; là on expérimente les inoculations de cultures pures, sur les animaux, sur l'homme ; les cliniciens apportent de nouveaux cas de complications de la blennorrhagie ; les bactériologues recherchent la présence du gonocoque dans les diverses lésions. La bibliographie est très nombreuse, dans tous les pays, sur ces différentes questions et pourtant on ne trouve même dans les meilleurs travaux qui mettent au point la question du gonocoque, des toxines microbiennes en général, comme les monographies de Bosc (1892), Marcel Sée (1896), A. Gautier (1897), que des notions vagues, imparfaites ou inexactes sur la toxine du gonocoque ; quant à l'antitoxine il n'en est pas fait mention.

C'est pourtant en étudiant le chimisme d'un microbe, en essayant d'isoler ses toxines, d'expérimenter leur action et sur les animaux et sur l'homme qu'on peut retirer des notions pratiques, arriver à réaliser l'immunisation dans une maladie infectieuse, à constituer la sérothérapie.

Grâce à la bienveillance de M. le docteur John de Christmas, nous avons eu l'honneur de travailler dans son laboratoire, de profiter de ses précieux conseils, de suivre les expériences entreprises sur les animaux, sur l'homme depuis deux ans environ, au sujet de la toxine et de l'antitoxine du gonocoque. Nous avons cru de notre devoir de présenter ce modeste travail sur un sujet aussi attrayant que difficile.

Nous l'avons divisé en deux parties :

- 1° *Une partie critique ;*
- 2° *Une partie expérimentale.*

La première partie comprend :

A. — Les expériences antérieures des auteurs qui se sont occupés de la toxine du gonocoque ;

B. — Les causes probables de leurs succès.

La deuxième partie contient :

A. — Les conditions dans lesquelles il faut se placer pour l'étude de la toxine du gonocoque ;

B. — L'étude expérimentale de la toxine de ce microbe ;

C. — Les conditions dans lesquelles il faut se placer pour l'étude de l'antitoxine ;

D. — L'étude expérimentale de l'antitoxine.

Enfin les *conclusions*.

# PARTIE CRITIQUE

---

## CHAPITRE I<sup>er</sup>

---

**Historique critique.** — Les bactériologues qui ont essayé jusqu'ici, d'isoler la toxine du gonocoque, ne semblent avoir obtenu que des résultats négatifs, ou bien leurs expériences ont été trop incomplètes pour entraîner une conviction ferme.

**Finger** (1), qui pourtant avait réussi à réaliser la culture pure du gonocoque, prouvée par des inoculations positives sur l'urèthre humain, lui qui avait aussi déterminé des arthrites manifestes chez les animaux « a voulu contrôler la part qui pouvait revenir dans l'action irritante des cultures, à la protéine du gonocoque et aux produits sécrétés par lui. Il a trouvé que cette part était nulle. Les produits obtenus par filtration de bouillons de culture, ou par extraction du corps de la cellule, au moyen de l'ébullition, ne déterminèrent chez l'animal aucune lésion » (2).

**Eraud** et **Hugounenq** ont expérimenté en 1890 avec un pseudo-gonocoque et la toxine qu'ils ont obtenue ne pouvait naturellement entraîner une conviction ferme sur sa valeur. Leurs expériences ont été consciencieuses, comme celles des autres auteurs, mais en dehors de la question d'authenticité du microbe, d'autres conditions, nous le verrons par la suite, les ont empêchés d'obtenir la toxine du gonocoque.

Dans leurs expériences, ils se sont servi de l'urine, du pus d'épididymite, d'orchite, de prostatite, trouvées chez des sujets porteurs de blennorrhagie. Il y ont trouvé un diplocoque qu'ils ont essayé d'assimiler au gonocoque de Neisser et voici ses caractères :

« Sa forme en grain de café » en semelles de souliers se regardant par leur bord concave » (3).

---

(1) Voir Expér. B et C.

(2) M. Sée : Le Gonocoque 1896.

(3) R. d'Harlac, Th. : Lyon 92.

Son groupement en amas, quelquefois en chaînettes.

La facilité de ses cultures dans les milieux ordinaires, dans l'agar-agar, dans le bouillon, dans le sérum, dans « l'asparagine, dans les cendres de viande » (1). Presque toujours les colonies poussent avec intensité et leur aspect est caractéristique. Ce sont des îlots ou des amas blanchâtres, quelquefois jaunâtres, rougeâtres.

La non liquéfaction de la gélatine.

La décoloration, incomplète d'ailleurs, par la méthode de Gram-Roux.

La présence de ces diplocoques dans l'urèthre de sujets exempts de blennorrhagie.

L'action de ses cultures, de sa toxine sur les animaux, en injection sous cutanée, intra-veineuse, intra-testiculaire, intra-articulaire, intra-oculaire ; sur les séreuses, les muqueuses ; leur action générale sur les animaux, cobayes, lapins qui se réduit, suivant les doses, à la mort par septicémie ou à des phénomènes d'hypothermie. Rien à l'autopsie. L'action locale sur les muqueuses, la conjonctive oculaire, l'urèthre des animaux, sur les surfaces articulaires, sur l'iris, sur les séreuses, sur le tissu cellulaire sous-cutané, est nulle. Dans le testicule il se produit le plus souvent une orchite, qui, guérit en sept ou huit jours, si l'animal ne meurt pas de septicémie.

Nous ne pouvons croire que *Eraud* et *Hugounenq* aient expérimenté en 1890 avec le gonocoque. Sur ce point nous partageons l'avis de Cayet et R. d'Harlac. Celui-ci, en 1892, soutint à Lyon, sa thèse, inspirée par Hugounenq ; elle montre déjà qu'à cette époque les idées des auteurs précédents, avaient dû se modifier sur l'analogie de leur pseudo-gonocoque, dénommé plus justement et plus tard, *orchiocoque*, avec le gonocoque de Neisser. R. d'Harlac fait une étude comparée entre le gonocoque et le microbe d'Eraud et Hugounenq, et pense qu'il ne s'agit pas du microbe de Neisser. Depuis 1892, bien des preuves sont venues s'ajouter à ses arguments.

La *forme* en grain de café, qui pour Neisser était caractéristique du gonocoque ne lui appartient pas en propre. Elle est celle de quelques microbes dont les dimensions sont, à quelque chose près, celle du gonocoque, et dont l'habitat normal est très souvent l'urèthre et le vagin de sujets sains. Comme tous ces diplocoques, le gonocoque se divise pour chaque couple, perpen-

---

(1) A. Gautier : loc. cit.

diculairement à l'axe de la division précédente, ce qui constitue des tétrades et des amas.

De plus « on peut dire que la forme classique du gonocoque, qu'on rencontre très souvent dans le pus, est celle qu'on retrouve le moins dans les cultures. Au lieu d'être arrondi régulièrement comme les autres microcoques, il a des contours inégaux présentant souvent la forme de cubes aux coins arrondis » (1).

A l'examen microscopique, il est impossible d'après Eraud et Hugounenq de faire la distinction entre les deux microbes. Toutefois, d'après R. d'Harlac, qui a examiné l'orchio-coque de ces auteurs, il est un caractère qui peut être utile à la différenciation des cultures pures : l'orchio-coque se détache sur un fond clair, tandis que la préparation d'une culture pure du gonocoque présente un fond de granulations, se décolorant par le procédé de Gram.

La *décoloration par le procédé de Gram*, incomplète d'ailleurs pour le diplocoque d'Eraud et Hugounenq, signalée en 1886 par Cornil et Babès, en 1887 par Roux (de Lyon), donnée comme caractéristique du gonocoque, est trop souvent prise en défaut pour qu'on puisse lui accorder toute confiance. Si elle suffit, en général, aux besoins de la clinique, il n'en est plus de même, lorsqu'il s'agit de poser un diagnostic précis. Du reste, en 1887, les microcoques qui se trouvent dans l'urèthre à l'état normal et pathologique étaient peu connus. Depuis, la liste des pseudo gonocoques n'a fait qu'augmenter.

La *non liquéfaction de la gélatine* ne paraît pas un signe bien probant pour identifier l'orchio-coque ou gonocoque. Tout d'abord ce dernier ne se développe pas sur gélatine, car celle-ci se liquéfie à 22°. D'autre part, le gonocoque ne se développe bien que vers 35° ou 36°. Le microbe cultivé par Eraud et Hugounenq à une température inférieure à 22°, le microbe qui à cette température et dans le milieu gélatineux, donne presque toujours de belles colonies ne peut être le gonocoque. A la température nécessaire au développement intense et rapide du microbe de Neisser, la gélatine est déjà liquéfiée ; cette action ne peut être due au gonocoque. A 25° environ, la poussée est rare et maigre pour ce dernier.

La *présence* du gonocoque dans l'*urèthre normal*, qui, à un moment donné, avait semblé être admise, paraît aujourd'hui

---

(1) J. de Christmas : Ann. de l'Institut Pasteur.

une question tranchée : on avait affaire à des pseudo-gonocoques et celui d'*Eraud* et *Hugounenq*, rentre dans cette catégorie.

Les cultures à elles seules permettent d'établir la différence entre l'orchicoque et le gonocoque. Tandis que le premier se cultive sur bien des milieux, gélatine, bouillon, solution d'asparagine, cendres de viande, et que dans ces cultures il y acquiert une grande vitalité, le gonocoque au contraire ne se développe que dans certains milieux particuliers, comme nous le verrons plus loin, et encore, sur sérum humain, qui est pourtant un excellent milieu de culture, sa vie est-elle souvent difficile et précaire.

Il y a là, d'après R. d'Harlac, une différence capitale des deux espèces. Mais il y a plus. « *Eraud* et *Hugounenq* ayant constaté que les échantillons du pus blennorrhagique prélevés sur divers malades ne donnent pas toujours une culture, découvrent, en étudiant les observations de ces malades, que très souvent, lorsqu'il y avait culture, la blennorrhagie y était compliquée d'orchite. En outre l'injection expérimentale de culture pure de ce microbe ou du produit soluble excrété par lui dans le testicule de chiens jeunes, y reproduisait l'orchite. Ce saprophyte de l'urèthre paraît donc avoir pleinement satisfait à la triade de Koch. D'où il est permis d'inférer une relation de cause à effet entre le microbe et le symptôme orchite, relation qui a été consacrée plus tard par l'appellation d'*orchicoque* qui a été donnée à ce microbe » (1).

L'*orchicoque* d'*Eraud* et *Hugounenq* et le gonocoque sont donc deux microbes de la même famille, des diplocoques, mais différents l'un de l'autre.

Après ces considérations, que faut-il penser de la *toxine de ce microbe*? On ne peut, dans l'espèce, lui attribuer une valeur réelle. Quelles sont en effet les lésions que produisent et les cultures et les produits solubles? La septicémie? Elle est loin d'être caractéristique. L'orchite? Certes, dans la blennorrhagie, chez l'homme, on peut voir, en clinique, l'orchite parmi ses complications, mais celle-ci n'apparaît, le plus souvent, dans les expériences citées, que lorsque les malades, porteurs de blennorrhagie, avaient en même temps une orchite. A supposer même, qu'ils en aient été indemnes, l'injection des cultures, de la toxine de l'orchicoque, dans le testicule des animaux, ne prouve qu'une chose : c'est qu'il existe un orchicoque dans le

---

(1) Ann. de Dermatologie et de Syphilographie. Avril 1892.

canal uréthral des sujets, mais non le gonocoque de Neisser, Quant à l'action sur les muqueuses, sur l'urèthre, sur la conjonctive, sur les surfaces articulaires, sur les séreuses, manifestations si communes de la blennorrhagie, *Eraud* et *Hugounenq* n'obtiennent que des résultats négatifs. Nous verrons qu'il en est autrement avec la gonotoxine obtenue au laboratoire de J. de Christmas.

Si encore des inoculations de cultures pures sur l'urèthre humain avaient pu être pratiquées et avec succès, n'aurait-on pas douté de l'authenticité du microbe, sinon des toxines, celles-ci étant plus difficiles à isoler, malgré la certitude que l'on ait, d'expérimenter avec le gonocoque.

L'injection de *cultures* pures dans les *articulations* n'ont rien donné, à *Eraud* et *Hugounenq*. Au contraire, avec les autres expérimentateurs comme *Finger*, et tant d'autres encore, et d'après leurs observations que nous publierons, les résultats sont positifs. Si autant de signes négatifs et des plus importants, si un si petit nombre de résultats positifs non caractéristiques de l'infection gonococcique caractérisent les expériences d'*Eraud* et *Hugonneng*, on ne peut prendre en considération leurs études sur une prétendue toxine gonococcique.

Si *Eraud* et *Hugounenq* n'avaient pas été heureux dans leurs expériences, **Wertheim** lui non plus, quoique agissant avec des cultures pures du gonocoque, n'obtint de meilleurs résultats. Voici comment il s'exprime dans la séance du 14 juillet 1897, à la Société Berlinoise de Médecine: « J'ai cultivé les gonocoques dans un mélange de sérum humain et de bouillon de peptone, j'ai filtré les cultures et j'ai injecté le liquide filtré à un homme, mais sans résultat. » (1)

**Wasserman**, à la même séance de la Société de Médecine Berlinoise, fit une communication sur la toxine obtenue en cultivant le gonocoque sur sérum de porc, auquel il ajoute de la nutrose de Salowsky (phosphate de soude et de caséine) pour empêcher la coagulation de l'albumine; il additionne le tout de gélose peptonisée. Voici ce qu'il dit à ce sujet: « Pour constater si le gonocoque contient une toxine spécifique, j'ai ajouté du bouillon de peptone aux cultures, j'ai laissé les cocci pendant trois jours dans ces cultures, puis après les avoir détruits, j'ai examiné le liquide de culture. Ce liquide contient une toxine spécifique très active, qui détermine une inflammation au niveau

---

(1) Semaine Médicale : juillet 1897.

du point où on l'injecte, en même temps qu'elle provoque de la fièvre ainsi que des douleurs musculaires et articulaires. Cette toxine se trouve dans le corps même des gonocoques : en effet les cultures, filtrées à la bougie Chamberland, se montrent toujours inactives tandis que le résidu de la filtration, qui contient des microbes morts, produit de l'inflammation locale avec fièvre et tuméfaction des ganglions de voisinage. (1)

L'étude de la toxine du gonocoque commence avec Wasserman à entrer dans une phase nouvelle : on ne peut plus contester la valeur du microbe employé car à l'heure actuelle les milieux de culture du gonocoque sont suffisamment connus ; du reste les effets de ces toxines répondent assez bien aux inoculations faites par d'autres auteurs sur les animaux, avec les cultures pures, et même avec les arthrites qu'on observe en clinique. Mais les expériences sont encore fort imparfaites. Nous en donnerons plus loin les raisons ; ce que nous pouvons dire dès à présent, c'est que Wasserman ne peut isoler la toxine du gonocoque.

**Schaeffer** (2), au mois d'octobre 1897, voulut essayer les effets de la toxine du gonocoque sur l'écoulement de la blennorrhagie chronique. Il expérimente sur le lapin et sur l'homme dans le service de Neisser avec les cultures filtrées du gonocoque. « Chez le lapin l'injection fut suivie d'une élévation de température qui du reste se manifesta aussi lorsqu'on injecta le liquide qui avait servi à la culture du gonocoque » (3). On obtint un faible résultat en injectant le liquide filtré dans l'urèthre de sujets atteints de gonorrhée chronique : il se produit un très léger écoulement qui dura peu de temps.

Ces résultats de Schaeffer, tout en confirmant d'une façon très atténuée les résultats obtenus au laboratoire de J. de Christmas, sont loin cependant d'entraîner une conviction ferme. Du reste, le but en vue duquel ces expériences avaient été entreprises, la façon dont elles ont été conduites et les conditions dans lesquelles Schaeffer s'est placé pour extraire la toxine, ne pouvaient donner de meilleurs résultats.

**Nicolaysen** (4) (de Christiania) sans pouvoir réussir à isoler la toxine du gonocoque fit des expériences plus complètes. Voici les conclusions de son travail, daté du mois de juillet 1897 :

---

(1) Semaine Médicale : loc. cit.

(2) Schaeffer : Fortschritte der Médecine Oct. 1897.

(3) Semaine Médicale : loc. cit.

(4) Nicolaysen : Fur Pathogenital und Giftigkeit des gonococcus. (Centrabl. f. Bakteriologie n° 12 1897.)

1° L'injection d'une culture de gonocoque (cultivé sur gélose-ascite) dans l'articulation du genou du lapin, produit une inflammation aigue et purulente de l'articulation;

2° L'injection dans le péritoine de souris tue les animaux sans production d'inflammation;

3° L'effet est le même que les cultures soient mortes ou vivantes;

4° L'effet est dû à la formation de produits toxiques dans le corps des microbes;

5° *Il ne se forme pas de toxines solubles dans la culture;*

6° La toxine ne se laisse pas extraire du corps des gonocoques par l'eau distillée, ni par une solution de soude caustique.

---

## CHAPITRE II

---

**Causes d'erreurs générales.** — Nous venons de passer en revue les auteurs qui se sont occupés de la toxine du gonocoque avant et après les résultats que nous publions plus loin : si, comme nous l'avons déjà dit, on peut adresser à Eraud le reproche de ne pas avoir expérimenté avec le gonocoque et de n'avoir pu obtenir dans ces conditions sa toxine, on ne peut en dire autant des autres auteurs : Finger, Wertheim, Wasserman, Schaeffer, Nicolaysen avaient obtenus des cultures pures et pourtant leurs essais pour démontrer l'existence de la toxine, pour isoler celle-ci, se réduisent à bien peu de choses. A quoi tiennent ces résultats négatifs ou incomplets sur la toxine ?

Nous pensons que les causes de ces insuccès pourraient se réunir sous deux chefs :

- 1° La délicatesse et les difficultés de culture du gonocoque ;
- 2° Les conditions défectueuses ou insuffisantes des expériences des auteurs précédents pour isoler la toxine de ce microbe.

**A. — Délicatesse et difficultés de culture du gonocoque.** — Le gonocoque en effet est un microbe très délicat, subissant l'influence des milieux extérieurs et de ceux dans lesquels il vit : il demande des milieux de culture spéciaux, des conditions de nutrition particulières.

a. — *Influence de la température.* — Le gonocoque est très sensible aux moindres changements de température. Tous les auteurs sont d'accord à ce sujet.

Trois cultures bien développées moururent, d'après Bockart, en les laissant pendant six heures à la température de 15° à 18°.

D'après le même auteur, on ne peut obtenir de 20° à 28° que de maigres cultures.

De 25° à 30° on a observé une certaine croissance.

Au-dessus de 30° les cultures deviennent plus abondantes.

La température optimum serait pour Bumm 30° à 34° ; pour Gebhart 37° ; pour Kiefer entre 35°, 8 et 36° ; enfin Wertheim

ainsi que J. de Christmas pensent que la température de 36° est la meilleure.

De 38° à 39° le développement est peu intense et il est souvent impossible de pouvoir repiquer.

“ En gouttes suspendues, les mouvements des microbes sont très apparents entre 28° et 38° ; ils sont plus faibles entre 25° et 23° et cessent au-dessous ; ils sont plus faibles encore entre 38° et 40°, et nuls au-dessus. ” (1)

b. — *Vie courte du gonocoque.* — A côté de la température il faut placer la vie très courte du gonocoque. “ En effet, les cultures mêmes placées dans les meilleures conditions vivent peu de temps ; suivant Bumm il faut les repiquer tous les deux ou trois jours. Il y a eu des cultures vivant 12 à 14 jours, mais elles meurent en général au bout de 5 à 6 jours ” (2). La mort n'est pas due à la dessiccation, comme cela arrive souvent, car selon Bockart, elle survient alors qu'il y a encore de l'eau de condensation au fond du tube.

c. — *Influence du milieu de culture.* — Le milieu de culture a aussi une importance considérable pour le développement du gonocoque. Le gonocoque ne se plaît que dans certains milieux spéciaux. Connaître ces milieux, en indiquer leur caractéristique, savoir la valeur nutritive relative de leurs différents éléments de composition, les comparer entre eux de façon à vérifier la plus ou moins grande vitalité qu'y acquiert le gonocoque dans chacun d'eux, la durée plus ou moins longue de vie de ce microbe, sa virulence plus ou moins exaltée, c'est déjà se placer dans de bonnes conditions pour chercher sa voie dans l'étude de la toxine et de l'antitoxine du gonocoque :]

Nous allons essayer de préciser ces divers points.

*Influence de la présence de l'albumine dans le milieu de culture.* — La présence de l'albumine est indispensable : il est généralement admis, aujourd'hui du moins, que le gonocoque ne peut vivre que dans un milieu qui renferme de l'albumine.

Les différents milieux les plus usités sont les sérums.

Bumm emploie le *sérum humain* retiré, soit d'une veine, soit du bout placentaire du cordon ombilical.

Wertheim se sert de *sérum humain* et gélose. Il maintient ce

---

(1) M. Sée : *loc. cit.*

(2) M. Sée : *loc. cit.*

sérum à 40°, qu'il mélange à quantité égale de gélose refroidie à 40° ; il coule sur plaques qu'il porte à 36°.

Au sérum humain assez difficile à se procurer en quantité suffisante, et à stériliser, on substitua le *sérum d'animaux* : chien, cobaye, bœuf, cheval, porc.

Wasserman donne son procédé de préparation « j'ai préparé, dit-il, un milieu très favorable à la culture des gonocoques, avec 15 c. c. de sérum de porc, 30° à 35 c. c. d'eau, 2 à 3 c. c. de glycérine et 0,80 centigrammes de nutrose de Salowsky (phosphate de soude et de caséine, pour empêcher la coagulation de l'albumine) ; on stérilise le mélange par l'ébullition pendant 20 ou 30 minutes sur la flamme d'une lampe à alcool. Au moment de s'en servir on y ajoute partie égale de gélose peptonisée à 2 0/0 et stérilisée, et on obtient un liquide suffisant pour huit à dix plaques de culture. »

Le blanc d'œuf, le jaune d'œuf ont été aussi expérimentés.

L'emploi des *humeurs pathologiques* est aujourd'hui d'un usage courant et donne de bons résultats pour quelques-unes d'entre elles.

Finger utilise l'urine humaine pathologique, renfermant 2 à 5 0/0 d'albumine et mélangée avec de la gélose.

Amfuso employa le liquide d'hyarthrose, Bockart le liquide d'une péricardite séreuse, Menge le liquide kystique.

*Influence de la nature de l'albumine.* — S'il est vrai que le gonocoque demande de l'albumine, il est aussi un point bien établi et qui a pu être expérimenté par J. de Christmas : c'est la nature de l'albumine employée. « Cette question est de premier ordre, et il est facile de se rendre compte que le gonocoque, loin de se plaire dans tous les sérums ou liquides albumineux de différente provenance, ne pousse d'une manière satisfaisante que dans certains milieux albuminés. C'est ainsi que la culture dans l'urine humaine pathologique, renfermant 2 à 5 0/0 d'albumine et mélangée à de la gélose, m'a toujours donné des résultats négatifs. Ce milieu, proposé par Finger et qui, entre les mains d'autres expérimentateurs, a déjà donné de mauvais résultats, doit donc être définitivement écarté.

L'albumine de l'œuf, le sérum des différents animaux sont de mauvais milieux de culture. Contrairement à ce qui a été dit, je trouve que le sérum de cheval et de bœuf ne peuvent nullement remplacer les sérums humains, surtout le sérum de cheval qui est un milieu plus que médiocre sur lequel je n'ai jamais pu obtenir une culture appréciable. Le sérum de bœuf

est meilleur, mais les cultures y sont maigres et y meurent très vite. Les sérums albumineux de provenance humaine forment tous d'excellents milieux de culture » (1). Ajoutons que les essais faits avec le sérum de porc de Wasserman, au mois de Décembre 1897, n'ont donné à J. de Christmas que des résultats très peu favorables ; le liquide est louche, malgré toutes les précautions, et le gonocoque n'y pousse que très peu. Croosz, de Vienne, au contraire, aurait obtenu des cultures assez convaincantes. Nous ne saurions dire pour le moment à quoi tiennent ces différences dans les résultats.

Il n'est pas indifférent, on le voit, de choisir parmi les milieux albuminés, mais cela ne suffit pas : les produits qu'on y ajoute ont une grande importance pour la nutrition du gonocoque : nous voulons insister sur la peptone et le glucose.

*Influence de la peptone.* — Les nombreuses expériences faites au laboratoire de J. de Christmas lui ont permis de tirer les conclusions suivantes : « La peptone à la proportion de 1 0/0, augmente de beaucoup la valeur nutritive du milieu. Elle semble même plus indispensable que le bouillon, car le bouillon ascite (dont il sera parlé plus loin) sans peptone ne donne que de maigres cultures, tandis qu'on obtient un très beau développement dans une solution de peptone ascite sans bouillon ».

*Influence du glucose.* — La question du glucose a été très controversée ; pour certains auteurs, le gonocoque pousse mieux en milieu sucré ; d'autres sont d'un avis contraire. J. de Christmas qui a fait des expériences à ce sujet, dit, ce que confirment ses résultats, que la glucose, à très petites doses, augmente la valeur nutritive du milieu. Mais il ne faut pas dépasser 1 ‰. Il est prouvé, par ce même auteur, que le gonocoque se nourrit aux dépens de la glucose : car ni par la fermentation, ni par la liqueur cupropotassique, on ne décèle du sucre ; de plus, le milieu qui auparavant était alcalin, est devenu légèrement acide, ce qui est dû à la transformation du glucose. Les autres milieux restent alcalins dans les mêmes conditions.

*Influence de la réaction du milieu de culture.* — Sur la réaction du milieu qui doit être *légèrement alcalin*, l'accord est à peu près parfait : « Quelques savants ont cru observer un développement plus riche sur milieu acide et entre autres Finger, Ghon et Schlagenaufer, qui ont constaté que le sérum

---

(1) J. de Christmas : loc. cit.

de bœuf acidifié avec le phosphate acide de soude donnait de meilleures cultures que le sérum alcalin. Cette observation est juste : le gonocoque pousse en effet mieux sur le sérum de bœuf acidifié, mais ce serait une erreur de conclure de ce milieu spécial à l'opportunité des milieux acides sur lesquels le gonocoque se développe mal » (1).

Marcel Sée, dans sa remarquable monographie sur le gonocoque, relate les expériences qu'il a entreprises à ce sujet pour vérifier l'utilité du milieu alcalin : « Dans des expériences comparatives, en ensemençant simultanément des tubes faits avec de la gélose acide et d'autres faits avec de la gélose alcaline, nous avons toujours obtenu un développement vigoureux sur ces derniers, alors que les premiers ne poussaient que faiblement ou ne poussaient pas du tout. La gélose alcaline au jaune d'œuf, bien inférieure à la gélose alcaline au sérum, s'est montrée infiniment supérieure à la gélose acide au sérum. Jamais nous n'avons obtenu de cultures sur gélose acide mêlée de jaune d'œuf, avec ou sans addition d'urine ».

*Impossibilité pour le gonocoque de vivre dans les humeurs vivantes ou fraîchement extraites de l'organisme.* — L'impossibilité pour le gonocoque de vivre dans les humeurs vivantes ou fraîchement extraites de l'organisme est aussi une condition très importante à noter pour expliquer le manque de virulence des cultures et les succès enregistrés. Voici par exemple l'expérience tentée sur le lapin qui montre bien que le sang du lapin ne laisse pas longtemps vivre le gonococque :

## EXPÉRIENCE I

Un lapin du poids de 2000 grammes reçoit 2 c.c. d'une culture âgée de 18 jours dans le bouillon ascite, dans la veine de l'oreille. La perte du poids dans les 48 heures suivantes était de 250 grammes. Le lapin est tué et le sang du cœur ensemenché sur gélose albuminée et sur sérum de lapin coagulé. Sur ces deux milieux on obtient un développement de nombreuses colonies de gonocoques, après 24 heures de séjour à l'étuve à 35°.

Le sang d'un autre lapin injecté de la même dose et tué 72 heures après l'injection, s'est montré stérile.

La résistance du gonocoque dans le sang vivant semble être à peu près la même que dans l'humeur aqueuse, où on peut cultiver

---

(1) J. de Christmas : loc. cit.

de nombreux germes 48 heures après l'inoculation, tandis qu'on ne trouve que quelques rares germes vivants après 72 heures.

L'humeur aqueuse de l'œil, de même que l'œdème sous-cutané produit par une injection de jéquiritine, chauffés et coagulés deviennent d'excellents milieux de culture.

**B. — Conditions d'étude expérimentale de la toxine, défectueuses ou insuffisantes.** — Par l'étude succincte, que nous venons de faire, sur les conditions de culture du gonocoque, il est facile de se rendre compte de la difficulté d'expérimenter; mais il y a d'autres causes capables d'expliquer les insuccès des auteurs sur les produits secretés par le gonocoque. Celles-ci sont dues aux conditions insuffisantes d'expérimentation dans lesquelles se sont placés les auteurs, et sont encore plus importantes que les causes qui tiennent à la délicatesse du gonocoque.

a. — *Difficultés de préparer les cultures en milieu liquide.* — La difficulté de préparer les cultures en milieu liquide de façon à entreprendre l'étude suivie de la toxine, les manipulations nombreuses qu'exige cette préparation exposent souvent à la contagion septique. De plus il est difficile de se procurer une grande quantité de sérum liquide, indispensable en l'espèce.

b. — *Manque de virulence des cultures.* — L'utilité d'employer des cultures vigoureuses est très grande et peut à elle seule expliquer les insuccès. Wasserman se servait des cultures de trois jours sans obtenir de bons résultats. Il est indispensable, pour connaître les effets de la toxine du gonocoque, de donner à ce microbe, outre le milieu convenable, le temps nécessaire à l'élaboration de celle-ci comme quantité et comme qualité. Nous verrons plus loin que la toxine du gonocoque, d'abord localisée dans le corps de ce microbe, passe peu à peu, contrairement à ce qu'affirment Wasserman et Nicolaysen, dans le milieu nutritif, d'où on peut l'extraire. Il ne suffit pas, comme le fait observer J. de Christmas, de se servir de la maigre culture d'un tube de gélose ascite, il faut employer des vigoureuses cultures obtenues dans son milieu nutritif, c'est-à dire de 10 à 12 jours, à 35°, 36° alors qu'elles sont en plein développement.

c. — *Filtration défectueuse des cultures.* — Une question plus délicate est celle des appareils employés pour filtrer les cultures du gonocoque, en vue d'obtenir la toxine. C'est un point capital à établir et qu'il faut bien mettre en vue.

Tous les auteurs se sont servis, dans leurs expériences, de la filtration avec la bougie Chamberland. Ce filtre est excellent

pour la séparation d'autres toxines, comme celle du microbe de Klebs-Lœfler, mais elle ne laisse, que peu ou pas du tout, passer la toxine du gonocoque ; de plus la filtration est longue à cause de la présence de l'albumine. C'est à ces défauts qu'on peut attribuer les erreurs de Wasserman, de Finger et de Nicolaysen qui prétendent que la toxine du gonocoque est localisée dans le corps du microbe, qu'elle ne passe pas dans le milieu de culture et ne peut être extraite ni par l'eau distillée, ni par une solution de soude caustique. Rappelons-nous ce que dit Wasserman ; « Cette toxine se trouve dans le corps même des gonocoques : en effet, les cultures filtrées à la bougie Chamberland, se montrent toujours inactives, tandis que le résidu de la filtration qui contient les microbes morts, produit de l'inflammation locale avec fièvre et tuméfaction des ganglions du voisinage. » Nous verrons dans la suite que cette conclusion est erronée.

J. de Christmas, le 7 janvier 1897, dans une lettre à M. Duclaux, directeur de l'Institut Pasteur, et parue dans les Annales, avait déjà attiré l'attention à ce sujet, sur l'imperfection de la bougie Chamberland. Il fit des expériences très concluantes, au sujet de la jéquiritine, substance nommée plus tard abrine.

Voici le résultat non équivoque de l'expérience :

« Dix grammes de graines de jéquirity décortiquées et grossièrement broyées, sont infusées pendant une demi-heure avec 200 grammes d'eau, et filtrés sur une petite bougie Chamberland neuve. Un centimètre cube du liquide filtré est injecté sous la peau d'une souris et plusieurs gouttes sont instillées dans la conjonctive d'un lapin. *Comme contrôle*, on injecte un centimètre cube de l'infusion non filtrée dans la peau d'une autre souris et on applique une goutte non filtrée sur la conjonctive d'un lapin. Vingt-quatre heures après, la souris de contrôle est trouvée morte ; l'œil du lapin est le siège d'une ophtalmie jéquitique caractéristique, tandis que le *liquide filtré n'a produit aucune trace de conjonctivite* et n'a en aucune façon affecté la souris, qui, malgré la forte dose reçue est en bonne santé. »

Voilà donc ce qui rendrait encore stériles les expériences tentées en vue d'obtenir et d'isoler la toxine du gonocoque.

---

# PARTIE EXPÉRIMENTALE

## A. — TOXINE

---

### CHAPITRE I<sup>er</sup>

---

**Conditions d'étude expérimentale de la toxine du gonocoque.** — Si nous jetons un coup d'œil d'ensemble sur ce qui précède, si nous voulons tirer des faits une conclusion pour ce qui regarde l'étude de la toxine et de l'antitoxine, nous pouvons dire qu'il faut procéder à cette étude en s'inspirant de plusieurs données.

Il faut :

- 1° Des cultures pures de gonocoque.
- 2° Des cultures vigoureuses de façon à obtenir une virulence relativement grande, cultures datant d'un certain temps.
- 3° Un milieu liquide assez facile à se procurer, assez abondant, permettant une vie assez longue du gonocoque.
- 4° Un moyen commode et sûr pour isoler la toxine.
- 5° Enfin ajoutons que l'animal d'expérience doit être assez sensible à la toxine pour servir dans les expériences.

Les études expérimentales qui suivent ont été exécutées en s'inspirant de ces idées.

**Sérum pur et coagulé du lapin.** — Pour obtenir des cultures pures, le sérum pur et coagulé du lapin est un milieu excellent ; pour étudier la toxine et l'immunisation, le liquide ascitique additionné de bouillon peptonisé et de glucose s'est montré très avantageux.

*Mode de préparation.* — Voici d'abord le mode de préparation du sérum de lapin, tel qu'il se pratique au laboratoire de J. de Christmas.

Il est facile de se procurer du sérum de lapin en saignant à blanc un lapin par incision de la carotide. Pour pratiquer la saignée il est nécessaire d'éthériser le lapin, qui est placé sur la table de contention, le cou tendu et la tête rejetée en arrière. Les poils épais qui couvrent le cou sont soigneusement coupés, la peau lavée

avec une solution antiseptique, et l'incision cutanée est faite avec un bistouri flambé. On arrive ordinairement avec la plus grande facilité sur l'artère, qui, après que les muscles sont écartés, est mise à nu, sur une étendue de deux ou trois centimètres. Une fois l'artère en vue, on commence par faire une ligature au-dessus de l'endroit qui sera incisé, on place une pince à hémostase au-dessous et on fait une large incision dans la paroi artérielle latérale avec les ciseaux courbes. En enlevant la pince, le sang coule en jet fort par l'incision et il devient facile de le cueillir dans un verre de Bohême auparavant stérilisé, couvert d'une feuille de papier à filtrer stérile, dans lequel on aura fait auparavant une ouverture suffisante pour l'entrée du sang. Le caillot se forme et se contracte dans les 24 heures suivantes et il devient alors facile de cueillir le sérum avec une pipette stérilisée et de le transporter dans des ballons de 50 c. c. de capacité, dans lesquels il est stérilisé définitivement par trois ou quatre chauffages successifs à 62°.

La répartition du sérum se fait dans des tubes à essai, de petit diamètre, stérilisés. Chaque tube reçoit un centimètre cube de sérum stérilisé. Pour obtenir la coagulation, on place les tubes sur un plan un peu incliné dans l'étuve à stérilisation et on chauffe lentement jusqu'à 85° à 90°. A cette température le sérum de lapin se prend en masse très transparente et très peu colorée. Pour le conserver, dans l'état d'humidité nécessaire, on couvre chaque tube d'un capuchon en caoutchouc.

La saignée d'un lapin de grosseur moyenne, (2 kilos), donne environ 100 cent. cubes de sang, dont le caillot laisse écouler environ 50 cent. cubes de sérum.

Voyons ses avantages et ses désavantages pour l'étude qui nous occupe. .

*Avantages du sérum pur et coagulé du lapin.* — Les avantages du sérum précédent sont les suivants :

a. — Il permet des cultures pures, rapides, vigoureuses, se conservant longtemps.

Les cultures sont en effet pures comme le prouvent leur aspect extérieur, l'examen microscopique, l'action des colorants et surtout de la toxine, l'impossibilité de les obtenir sur milieux non albuminés, l'influence de la température.

Du pus est pris dans le service de M. le docteur Balzer, à Ricord, et provient de blennorrhagiques avérés, à des périodes diverses de la phase aiguë.

Après avoir lavé l'urèthre avec une solution antiseptique, on cueille le pus avec l'anse de platine, en prenant la précaution de ne pas toucher la muqueuse. On l'étale sur la face coagulée d'un tube et on porte, dans le plus bref délai possible, le tube ensemencé,

dans l'étuve. Si on ne prend ces précautions le développement peut s'arrêter.

L'*aspect de ces cultures* est celui des cultures du gonocoque en milieu solide, décrit et par Bumm, et par Wertheim et par Heiman. Voici seulement quelques particularités qui permettent de reconnaître les cultures du gonocoque sur sérum de lapin. « Elles sont diaphanes, de contour arrondi, mais irrégulier, le point central plus élevé. Elles restent isolées ou confluentes selon l'humidité du milieu. Leur consistance visqueuse est assez caractéristique : en les touchant avec le fil de platine elles adhèrent au métal et se laissent étirer. Cette viscosité est très prononcée au fond du tube, où les gonocoques forment une masse flottante, qui se laisse enlever en entier. » (1)

L'*examen microscopique* vient confirmer les données tirées de l'aspect des cultures. Les microbes qu'on y voit sont des gonocoques qu'on peut reconnaître aisément. « Il existe des signes distinctifs qui permettent à un œil exercé de reconnaître de suite les gonocoques dans la préparation. Ainsi la distribution des germes dans une gouttelette de culture étalée et desséchée sur lamelle est différente de celle des microcoques ordinaires. Les gonocoques se trouvent réunis par deux ou quatre ou cinq petits amas irréguliers et ramifiés, tandis que la plupart des microcoques connus, quand on les délaye sur lamelle sont distribués régulièrement sur le verre, après dessèchement. Ceci tient à la couche visqueuse qui entoure les gonocoques et qui les empêche de se délayer. Ce qui frappe surtout, quand on regarde une préparation de gonocoque étalée sur lamelle et colorée avec une couleur d'aniline, c'est l'aspect irrégulier des germes. Au lieu d'être arrondis, comme les autres microcoques, ils ont des contours inégaux, présentant souvent la forme de cubes aux coins arrondis. La grosseur des grains est très inégale; beaucoup se colorent mal et présentent déjà, dans les cultures âgées de 24 heures, des formes de dégénérescence bien décrites par Wertheim. On peut dire que la forme classique du gonocoque en grain de café, qu'on rencontre toujours dans le pus, est celle qu'on trouve le moins dans les cultures. » (2)

La *décoloration* par la *méthode de Gram-Roux* est tout à fait complète.

Nous nous rappelons que les *milieux albuminés* sont indispen-

---

(1) J. de Christmas: loc. cit.

(2) J. de Christmas: loc. cit.

sables à la vie du gonocoque : des expériences tentées avec des milieux dépourvus d'albumine ne donnèrent aucun résultat.

Ajoutons que la *température*, dont le gonocoque ressent les moindres changements, montre ici ses effets. A 36° les cultures sont belles; au-dessus de 38°5, au-dessous de 32° il n'y a point d'ensemencement. A 15° et au-dessous, le gonocoque meurt en quelques heures.

Pour que la preuve fût **complète**, il aurait fallu *inoculer* ces cultures à l'homme, reproduire une blennorrhagie typique. Les expérimentateurs allemands n'ont pas craint de le faire sur des malades condamnés à bref délai, mais ceci a paru répugnant. D'ailleurs, les *effets de la toxine* du gonocoque que nous étudieront plus loin, nous édifiera sur la *valeur* de ces *cultures*.

Dans le sérum de lapin coagulé, les *cultures* sont *vigoureuses* et *rapides*. Après avoirensemencé ce milieu avec du pus blennorrhagique, on suit d'heure en heure, sous le microscope, le développement de la colonie : dans les petites parcelles du pus étalées sur le sérum, le protoplasma des leucocytes, les gonocoques augmentent. Le protoplasma éclate, la colonie s'étend, pousse des ramifications. Au bout de 2 heures, les débris protoplasmiques sont envahis en entier par les microbes dont les colonies grandissent rapidement.

Les cultures pures peuvent être obtenues dès le *second ensemencement* du pus blennorrhagique, car le gonocoque y pousse plus vite et d'une façon plus intense que les autres microbes, qu'on trouve souvent dans le pus blennorrhagique.

Le gonocoque, sur le milieu indiqué, vit trois et quatre semaines et même *jusqu'à deux mois*, après ensemencement, malgré la dessiccation complète du sérum, qui est une cause très appréciable de mort. La dessiccation dans quelques-uns des tubes était telle qu'on ne trouvait à cette époque qu'une couche dure adhérente au tube. Le repiquage permit d'obtenir de nouvelles cultures.

Il est, de plus, inutile de repiquer toutes les 48 heures comme dans les autres milieux.

Si nous comparons ce milieu à celui de Wertheim, nous pouvons dire qu'il est *plus précieux*. Le sérum gélose coulé en plaque permet assurément des cultures pures, toutefois il arrive souvent qu'on n'obtient rien. Faut-il mettre cet insuccès sur le compte des germes trop peu vivaces ? Sur la température trop haute de la gélose liquifiée et coulée en plaques ? Ou bien

les autres microorganismes du pus se développent-ils au détriment du gonocoque ? Ce sont-là des questions difficiles à trancher.

*Désavantages du sérum de lapin.* — Tels sont les avantages du sérum pur et coagulé du lapin, mais cela suffit-il pour faire des expériences au sujet de la toxine du gonocoque, de l'immunisation ? C'est là que se montrent les désavantages du sérum de lapin. A la rigueur, l'étude serait possible si les doses à inoculer étaient faibles et les expériences restreintes, mais, nous le savons, il n'en est pas ainsi. Si on saigne à blanc un animal adulte, on retire tout au plus 60 cent. cubes de sérum qu'on pourrait distribuer en petits tubes, mais cette quantité est bien faible quand il faut faire de grandes cultures en milieu liquide, pour l'étude de la toxine et de l'antitoxine.

Donc, malgré les avantages réels du sérum de lapin pour la culture du gonocoque, il n'est pas possible de l'employer ici exclusivement.

**Milieu liquide : bouillon ascite.** — Pour satisfaire aux conditions requises, il fallait avoir un autre milieu, liquide, à sa disposition. Nous avons vu que les liquides albumineux de nature humaine forment tous d'excellents milieux de culture et que le sérum humain, difficile à stériliser, l'était aussi à obtenir en grande quantité, sans compter que tous les expérimentateurs ne pouvaient l'avoir à leur portée. Au contraire, le liquide ascitique déjà employé par Marmorek pour la streptocoque, remplit les conditions requises.

*Mode de préparation du bouillon-ascite.* — Voici son mode de préparation, tel qu'on le fait au laboratoire de J. de Christmas :

Le péritoine d'un ascitique renferme souvent de 10 à 15 litres de liquide, qu'il est facile de cueillir dans des conditions d'asepsie parfaite en prenant certaines précautions élémentaires, qui consistent surtout dans une stérilisation complète du trocart, du tube en caoutchouc et du récipient dans lequel on laisse écouler le liquide. Pour cueillir une grande quantité de liquide, il faut employer de grands récipients, dont le volume dépasse les fours à stérilisation ordinaires. Pour les stériliser, j'ai employé le procédé suivant. Le récipient dont je me sers habituellement est un flacon tubulé, dit de Woolf, à une tubulure en bas, et pouvant contenir 10 litres, L'ouverture en bas est fermée par un bouchon en caoutchouc perforé, dans lequel j'adapte un tube en verre, dont le bout libre est fermé par un tube en caoutchouc, sur lequel j'adapte une pince

à compression. L'ouverture supérieure est fermée par un bouchon de coton stérile. Pour stériliser le récipient, on le lave d'abord à grande eau et on y introduit une certaine quantité d'acide chlorhydrique à 10 % qu'on a soin de laisser couler sur toute la paroi intérieure du récipient et dont l'excédent s'écoule par l'ouverture inférieure. L'acide chlorhydrique stérilise parfaitement les parois du récipient; mais comme le peu d'acide restant après l'écoulement peut nuire à la composition chimique du liquide ascitique, on le fait disparaître en faisant couler quelques centimètres cubes d'une solution de soude caustique stérile par l'ouverture supérieure, et qu'on laisse également mouiller les parois du récipient. Il se forme du chlorure de sodium dont l'excédent est vidé par le tube inférieur. Pour se servir du récipient, on remplace le bouchon supérieur par un autre dans lequel se trouve un tube en verre s'adaptant par un tube en caoutchouc au trocart qui doit être à double courant, le tout est stérilisé dans la vapeur à 120°. Le récipient rempli du liquide d'ascite, est transporté au laboratoire où il est aisé de distribuer le liquide en ballons à haut col de 150 à 200 c. c. qui, fermés à la lampe, subissent deux ou trois chauffages à 62°, pour assurer la stérilisation définitive du liquide. Au liquide ainsi obtenu on ajoute du bouillon peptonisé, dans la proportion de une partie pour trois de bouillon peptonisé.

La peptone à la proportion de un pour cent augmente de beaucoup, comme nous l'avons déjà dit, la valeur nutritive du milieu. « Elle semble même plus indispensable que le bouillon, car le bouillon ascite sans peptone ne donne que de maigres cultures, tandis qu'on obtient un très beau développement dans une solution de peptone-ascite sans bouillon. Mais la toxicité de ces dernières cultures m'a semblé diminuée : aussi j'ai toujours préparé les milieux de culture avec le bouillon de veau ordinaire ou avec l'extrait de viande Liebig (0.5 centigrammes pour un litre d'eau). La proportion de sucre qu'on ajoute au tout est de 1 0/00. Cette dose augmente de beaucoup la valeur nutritive du milieu. » (1)

*Avantages du bouillon-ascite.* — Le milieu liquide que nous venons de voir offre de réels avantages, sans présenter aucun inconvénient pour l'étude qui nous occupe.

Les cultures y sont pures, il est limpide, et se laisse facilement stériliser.

Il peut s'obtenir en assez grande quantité pour faire de grandes cultures nécessaires pour l'étude de la toxine et de l'immunisation.

---

(1) J. de Christmas : loc. cit. .

« Dans le milieu ascitique on obtient une *culture abondante* du gonocoque si on a soin d'ensemencer avec des germes provenant d'une culture fraîche, et en tenant les ballons à une température de 36°.

Le *développement* est alors *rapide et caractéristique*.

Déjà, après 12 heures le liquide est légèrement trouble et il s'est formé une légère couche de gonocoques, qui couvre tout le fond du vase : les germes semblent, les deux ou trois premiers jours, se développer surtout dans la profondeur du liquide, mais passé ce délai, la poussée prend un nouvel essor et le développement à la surface du liquide devient plus abondant. Les gonocoques forment un léger voile blanchâtre et crémeux ; le liquide se trouble fortement, et la couche, qui couvre le fond, augmente d'épaisseur à la suite du développement des germes, qui de la surface tombent au fond. Le voile ne forme jamais de pellicule sur le liquide, il est de consistance visqueuse, et de sa surface descendent de longs filaments flottant dans le liquide et se collant aux parois du vase.

Sept à huit jours après l'ensemencement la poussée est finie, le liquide s'éclaircit, le voile qui était sur la surface, disparaît en tombant au fond, et l'ensemencement dans un nouveau milieu reste stérile. En examinant la couche blanchâtre, visqueuse et épaisse, qui couvre le fond du ballon, auquel elle adhère assez pour ne pas se laisser enlever, même en agitant le liquide fortement, on la trouve composée de gonocoques, dont une partie ne se colore déjà que faiblement, par suite de la prompte dégénération de ce microbe ; ils sont collés ensemble et forment de larges amas, qui ne se laissent plus séparer » (1).

Tel est l'aspect des cultures en milieu ascite peptone : pour les obtenir, il faut d'abord se procurer des *cultures pures*, ce qui est très facile et rapide par le procédé suivant indiqué par J. de Christmas : « pour obtenir les premières cultures pures de gonocoques, isolés du pus blennorrhagique, je me suis servi d'un procédé aussi facile que rapide, et qui consiste à étaler une goutte de ce pus sur la surface du sérum de lapin coagulé, qui est placé, aussitôt que possible après l'ensemencement, dans l'étuve à 36°. Si la blennorrhagie est récente et si le pus renferme beaucoup de gonocoques, il suffit souvent de 12 heures de séjour dans l'étuve, pour voir la surface du sérum se couvrir de petites colonies transparentes. Ce microbe qui semble avoir une affinité

---

(1) J. de Christmas : loc. cit.

toute spéciale pour le sérum de lapin, s'y développe plus vite que les autres microorganismes qui se trouvent souvent dans le pus blennorrhagique, et il devient très facile, en repiquant dans un nouveau tube une colonie isolée, d'obtenir, *dès ce second ensemencement*, une *culture parfaitement pure et abondante de gonocoques* » (1).

Le milieu liquide ascitique est en outre *limpide*. « Avec la gèlose, il forme un milieu d'une limpidité parfaite sur lequel le développement d'une culture ensemencée en stries, dans le sérum coagulé du lapin et placée dans le thermostat à 35°, se fait abondamment dans les 24 heures suivantes. »

En outre il se laisse *facilement stériliser* car il supporte sans coaguler un chauffage plus élevé que le sérum du sang 50° à 70°.

Le liquide d'ascite peut avec facilité se procurer en *quantité assez abondante* pour entreprendre des expériences.

**Filtration.** — Nous parlerons plus loin de la filtration des cultures.

**Choix de l'animal d'expérience.** — Après avoir posé les conditions requises pour faire l'étude expérimentale de la toxine, de l'antitoxine du gonocoque, restait à déterminer l'animal capable de réagir par l'injection des cultures, de la toxine.

Le *lapin* et la *chèvre* sont les deux animaux de choix : l'un et l'autre manifestent leur réaction envers la toxine par des signes appréciables, faciles à contrôler, à mesurer.

Nous allons aborder l'étude de la toxine du gonocoque, puis celle de l'antitoxine, telle que nous avons pu la vérifier expérimentalement depuis deux ans au laboratoire de John de Christmas.

---

(1) J. de Christmas : loc. cit

## CHAPITRE II

---

### **Etude expérimentale de la toxine du gonocoque.**

— Les expérimentateurs qui avaient tenté d'isoler la toxine du gonocoque ne l'avaient point fait sans avoir des preuves, sinon certaines, du moins présomptives de son existence. Le gonocoque, comme les autres microbes, en général, devait fabriquer une toxine; de plus, la clinique et l'expérimentation sur les animaux, devaient attirer l'attention sur les lésions concomitantes ou consécutives à l'infection blennorrhagique, sur les troubles produits par les inoculations de cultures pures, et dans lesquels, la présence du gonocoque n'avait pu être décélée, ni par l'examen microscopique, ni par les cultures en milieu approprié.

**Preuves présomptives de l'existence de la toxine du gonocoque.** — 1° *Preuves cliniques.* — Que nous enseigne, en effet, la clinique? C'est l'analogie de l'infection gonococcique avec des infections diverses, comme la diphthérie, maladie d'abord localisée, causant ensuite une intoxication générale de l'économie, attaquant un grand nombre d'organes, sans qu'on puisse trouver, en ensemençant avec les produits pathologiques, le microbe de Klebs-Lœffler. Sans entrer dans une étude détaillée à ce sujet, nous dirons cependant que les lésions agonococciques, dans le cours de la blennorrhagie, alors qu'il n'y a aucune autre maladie capable de les expliquer sont assez nombreuses. Cela ne veut pas dire que toutes les complications de la blennorrhagie sont agonococciques, mais celles qui revêtent ce caractère, prouvent ou du moins, font penser qu'il y a autre chose que le gonocoque en jeu : peut-être s'agit-il de toxines !

*a. — L'état général* de certains blennorrhagiques, indemnes de toute complication confirme cette idée qu'il s'agit probablement d'accidents d'origine toxique. C'est leur teint pâle, blafard, leur

épuisement souvent de longue durée, alors que les signes locaux ont disparu; c'est pendant la période d'écoulement, la fièvre qui peut monter jusqu'à 40°; l'état gastrique souvent intense. Cela est-il dû à la souffrance, qui ne dure que quelques jours? Au changement de régime? A une suppuration faible et localisée de l'urèthre? Ces symptômes ne sont point assez intenses pour expliquer l'état général qui persiste. Est-ce le gonocoque qui pullule dans le sang? Non: nous avons vu qu'il n'y vit pas ou du moins très-peu de temps. Il y a là *intoxication*.

b. — Quant aux lésions des différents appareils, elles ne sont pas moins suggestives, sinon certaines, pour ce qui a rapport à l'existence de la toxine. Les *complications* suivantes, *agonococciques* plaident dans ce sens.

Du côté du *système nerveux*, on a observé: des manifestations méningo médullaires: témoin l'observation de Barié, suivie d'autopsie et où il ne trouva pas de gonocoque; des affections aiguës des méninges craniennes (Vidart et Bockart); des névrites périphériques portant sur les nerfs spinaux: sciatique, crural; sur les nerfs craniens: névrite optique (Panas), surdité (Fishel) et toujours sans gonocoque.

Citons les *exanthèmes blennorrhagiques*, à forme augio-neurotique: erythème simple, noueux ou polymorphe, purpura, dus probablement à une intoxication.

Les lésions: sur les *surfaces articulaires* sont nombreuses. Si dans certains cas, malgré l'absence du gonocoque, on a pu trouver d'autres microbes, on n'en peut dire autant de l'observation de Guyon et Janet (1889) où l'examen n'amena la découverte d'aucun gonocoque, d'aucun autre microbe; les cultures restèrent muettes. Les *synovites* tendineuses sont aussi signalées par Dupré (1888); elles ont été soumises sans succès à l'examen microscopique, à l'épreuve des cultures.

Les *Reins* fournissent des observations très intéressantes. C'est l'*albuminurie* au cours de la blennorrhagie, sans qu'on puisse faire entrer en jeu les infections secondaires, comme cela se voit à la suite de la diphtérie. Souplet cite le cas d'une néphrite non précédée de cystite, de pyélite et évoluant à la façon des néphrites infectieuses aiguës légères.

L'*appareil circulatoire* fournit un fort contingent d'endocardites, péricardites, phlébites, agonococciques.

Quant à la *pleurésie* on l'a notée maintes fois.

Cockart signale des *lymphangites* des *adénites* sans gonocoques.

Les lésions de l'appareil génital agnococeques, sont nombreuses.

2° *Preuves expérimentales.* — Voilà donc, en résumé, ce que la clinique enseignait. L'expérimentation sur les animaux devait attirer encore plus l'attention des bactériologues. Ceux-ci relèvent des cas de lésions, produites par les cultures pures du gonocoque, sans que l'examen microscopique, les cultures des produits pathologiques, accusent la présence du gonocoque.

a. — *Steinchnneider* voulant vérifier les assertions de Wertheim, sur l'action des cultures de gonocoque sur la séreuse péritonéale, exécuta une série d'expériences avec des cultures de gonocoques délayées dans du sérum-agar liquide. Telles sont ses conclusions :

« Voilà donc trois cas où sans aucun doute l'inoculation d'un morceau d'agar-sérum, entraîna une péritonite exsudative, mais les gonocoques ne purent être mis en évidence, ni par les préparations, ni par les cultures.... Des expériences de contrôle faites en inoculant dans le ventre d'une souris, un morceau d'agar-sérum stérile, ne donnèrent absolument aucune réaction ». (1).

b. — *Finger, Ghon et Schlagenhauser*, expérimentant avec des cultures pures en milieu liquide, avec le milieu seul, donnent des résultats plus concluants. Par des inoculations dans les articulations de quatre chiens, de trois lapins, de quatre cobayes, ils ont pu déterminer de véritables arthrites aiguës, sans gonocoques. Voici trois de leurs expériences qui sont significatives.

## EXPÉRIENCE A

« Le 27 décembre 1892, on injecte à un chien de taille moyenne dans le genou droit, une demi-seringue de Pravaz d'une culture pure de gonocoques en bouillon additionné de sang (bouillon additionné de quelques gouttes de sang humain, milieu liquide excellent, et analogue à l'agar de Pfeiffer).

Le 28 décembre, l'articulation est rouge, gonflée et notablement plus chaude. Le chien boîte, tient le genou fléchi et accuse de la douleur à l'extension.

Le 29, même état. Le chien est tué par le chloroforme, son genou droit ouvert aseptiquement. Dans l'articulation se trouve une grande quantité d'un liquide filant, séro-purulent. Ce liquide estensemencé dans plusieurs boîtes de sérum-agar et d'agar de Pfeiffer, on en fait des lamelles.

---

(1) Berliner Kl. Wock., 1893 (Traduct. M. Sée).

Celles-ci montrent de nombreuses cellules de pus, mais absolument aucune bactérie. L'articulation est mise dans l'alcool pour l'examen microscopique.

Le 31, toutes les cultures sont restées absolument stériles.

*Examen microscopique* de coupes de la capsule articulaire : infiltration micro-cellulaire dense et allant assez profondément, de la synoviale et de la portion fibreuse de la capsule. On ne trouve absolument rien dans les coupes, ni gonocoques ni autres bactéries.

*L'injection d'une culture de gonocoques a donc causé chez un chien une arthrite aiguë du genou.* Mais le contenu et la paroi articulaires étaient absolument libres de tout microbes. Les gonocoques étaient déjà morts après quarante-huit heures et ne s'étaient pas multipliés. »

## EXPÉRIENCE B

Le 7 mai 1893, un cobaye reçoit dans le genou gauche une demi-seringue de Pravaz de bouillon-sérum pur, sans gonocoques ; dans le genou droit, une demi-seringue de bouillon-sérum ensémençé le 17 avril avec des gonocoques, mais séparé de ceux-ci avant l'injection, par *filtration au filtre de Chamberland*, de façon à ne contenir que des produits solubles des gonocoques, passés avec le bouillon.

Aucune des deux injections ne produisit la moindre réaction. Ni le bouillon, ni les produits d'échanges du gonocoque, n'engendrèrent d'arthrite.

## EXPÉRIENCE C

« Le 7 mai 1893, un cobaye reçoit dans le genou droit une demi-seringue de solution deprotéines du gonocoque préparée suivant la méthode de Roemer, par la cuisson prolongée d'une culture ; dans le genou gauche, pour le contrôle, une demi-seringue d'eau distillée stérile.

Aucune des deux injections ne produisit de réaction. Les protéines du gonocoque ne purent davantage causer une arthrite (1).

**Preuves expérimentales : preuves de certitude.** — Par les exemples précédents nous pouvons nous rendre compte de l'existence probable de la toxine, surtout si nous faisons abstraction du résultat négatif de Finger dans les expériences B et C, résultat dû à la filtration défectueuse des cultures, quand il veut isoler la toxine. Nous avons assez insisté à ce sujet dans le chapitre précédent.

La série d'expériences que nous allons relater, démontrent au contraire l'*existence certaine* de la toxine du gonocoque.

---

(1) Trad. M. Sée.

Nous avons eu le bonheur, au laboratoire de J. de Christmas, de recueillir les plus intéressantes de ces expériences.

Nous tâcherons de démontrer l'existence de la gonotoxine, par son action générale et locale sur les animaux, sur l'homme, d'étudier quelques-unes de ses propriétés chimiques, de déterminer son mode de préparation et de conservation.

La preuve de l'existence de la gonotoxine peut se faire par les effets sur les animaux :

1° **Des cultures en milieu liquide :**

A. *En injection sous-cutanée;*

B. *En injection intra-veineuse.*

2° **Du milieu liquide stérile, expérience de contrôle :**

3° **Des cultures filtrées :**

A. *En injection sous-cutanée;*

B. *En injection intra-veineuse.*

4° Enfin par l'action de la toxine sur :

A. *L'Œil;*

B. *La plèvre;*

C. *La muqueuse uréthrale de l'homme.*

Pour se rendre compte de l'action toxique du gonocoque « il ne suffit pas de se servir de la maigre culture d'un tube de gélose-ascite: il faut employer des vigoureuses cultures obtenues dans le milieu nutritif dont la composition vient d'être donnée et lui laisser le temps d'obtenir son plein développement, c'est-à-dire 10 à 12 jours à 35°, 36°. » (1).

## EXPÉRIENCE II

**Injection sous-cutanée de cultures en milieu liquide, bouillon-ascite, et âgée de 8 à 12 jours, portées à 36°.**

Un lapin de *poids moyen* (2 kilos), reçoit dans le tissu cellulaire sous-cutané une dose de 10 cent. cubes. Vingt-quatre heures après, on ne trouve, à l'endroit inoculé, qu'un peu d'œdème, qui, les jours suivants, se résorbe.

On injecte alors 20 cent. cubes. Vingt-quatre heures après, l'œdème augmente, en formant les jours suivants, une tuméfaction assez considérable, dure au toucher, très douloureuse. L'endroit est le siège d'une inflammation qui se manifeste par un afflux leucocytaire avec formation de pus épais en petite quantité, et plus

---

(1) J. de Christmas: loc. cit.

tard par une rétraction cicatricielle des téguments, qui est très longue à disparaître et qui reste sensible pendant un mois ou plus, après l'injection.

L'endroit injecté devient quelquefois, chez d'autres animaux, le point de départ de *vastes abcès* dont l'origine est à chercher dans une infection secondaire, car ils se produisent malgré les précautions d'antisepsie les plus minutieuses, et quoique la pureté du liquide injecté soit hors de doute. Ces abcès s'observent surtout quand l'animal est cachectisé après plusieurs injections successives. Ils n'ont aucune tendance à guérir spontanément, ils peuvent souvent former des collections purulentes de dimensions différentes et quelquefois dépasser la grosseur d'un œuf d'oie.

Les abcès ne sont pas provoqués directement par l'injection sous-cutanée de la culture gonococcique, mais les substances toxiques contenues dans la culture semblent diminuer la résistance des tissus et les prédisposer aux infections secondaires. L'examen microscopique du pus de ces abcès montre ordinairement un diplocoque, qui sur la gélose, forme des colonies blanchâtres, arrondies, d'un développement assez restreint. Quelquefois on trouve un bâtonnet court et fin poussant également sur la gélose ordinaire. Ces abcès n'ont jamais été observés sur d'autres animaux que le lapin : ni chez le cobaye, très réfractaire à la gonotoxine, ni chez le chèvre, qui au contraire est très sensible à ce poison.

Si on fait une injection sous-cutanée chez des *lapins très jeunes* (un mois à six semaines), on la voit suivie de phénomènes d'inflammation plus prononcée que chez les animaux adultes. Ici on observe à la suite de l'infiltration leucocytaire, décrite tout à l'heure, une véritable fonte purulente du tissu et la formation de petits abcès bien circonscrits de la grosseur d'une noisette ou plus grands.

Ces *abcès* ne peuvent être confondus avec les abcès d'origine secondaire, dont il vient d'être question. Ils sont bien le résultat immédiat de l'influence phlogogène de la toxine gonococcique et se *produisent en dehors de toute invasion microbienne*. Leur contenu est formé de pus épais et parfaitement stérile. Ils n'ont aucune tendance à se répandre, et ils disparaissent lentement, à la suite d'une résorption du contenu, sans aucune lésion des téguments.

Si les phénomènes locaux qui suivent l'injection sous-cutanée sont appréciables, la réaction générale est aussi manifeste, et montre bien que le lapin subit une *intoxication* dont la gravité est proportionnelle aux doses injectées, et qui se manifeste par une fièvre intense et une *perte de poids considérable*. Si la quantité injectée dans le tissu sous-cutané est de 15 à 20 c. c. d'une culture vigoureuse âgée de 8 à 10 jours, l'animal est manifestement malade. Il reste blotti dans un coin de la cage, refusant toute nourriture : la température prise 12 à 20 heures après l'injection, monte à 40°, 2 ou 40°, 5. Cette *élévation* de la *température* n'est que *passagère*.

Souvent elle est suivie d'un *abaissement au-dessous de la normale*, et elle peut descendre à 36° ou 37°, (39° à 39,5 étant la température normale chez le lapin) mais presque toujours elle disparaît après 48 ou 72 heures. La perte de poids atteint, dans les premières 24 heures 150 à 200 grammes pour un lapin de poids moyen (2 kilos à 2 k. 1/2).

Les jours suivants, le poids diminue encore d'une centaine de grammes, et l'animal ne regagne le poids perdu qu'après 10 à 15 jours. Si la dose injectée est plus forte, si on la répète à court intervalle, ou si au lieu d'injecter la culture entière, on injecte les toxines, concentrées selon le procédé indiqué plus loin, on peut produire chez les animaux injectés un état de cachexie se manifestant par un amaigrissement considérable (la perte de poids peut aller dans quelques jours jusqu'au cinquième du poids total). Les lapins ne se remettent que très lentement et meurent souvent dans un état de dépérissement complet.

L'autopsie dans ce cas ne montre *aucune lésion* apparente des organes. Le principal phénomène est une anémie prononcée avec diminution considérable du nombre des globules rouges. (1)

Tels sont les effets locaux et généraux des cultures gonococciques, en injection sous-cutanée. Voyons leur action pour la voie veineuse chez le même animal, le lapin,

### EXPÉRIENCE III

#### **Injection intra-veineuse de cultures gonococciques, en bouillon-ascité, chez le lapin.**

On introduit la culture de gonocoque dans le système veineux en injectant 1 à 2 c. c. dans la veine marginale de l'oreille du lapin : les mêmes phénomènes de *fièvre* et de *perte de poids* se reproduisent mais avec une *plus grande intensité*. La *fièvre* monte dans les 24 heures suivantes à 40,5 — 41°, et la perte de poids peut atteindre 250 à 300 grammes pour un lapin pesant deux kilos. La diminution de poids continue pendant 3 ou 4 jours, la réaction fébrile disparaît 2 ou 3 jours après l'injection.

Si on augmente la dose ou si le liquide injecté renferme une très grande quantité de gonocoques on voit souvent l'*animal succomber* dans un laps de temps assez court. . . . .

L'autopsie de ces cas, montre une forte hypérémie pulmonaire, qui probablement est la cause immédiate de la mort. Dans d'autres cas, non suivis de mort, on observe, à la suite d'une forte injection, des phénomènes de collapsus suivis d'un *abaissement* considérable de la température (2).

---

(1) J. de Christmas : loc. cit.

(2) J. de Christmas : loc. cit.

*Perte de poids.* — La perte de poids à la suite de l'injection intraveineuse de toxine est caractéristique. Nous verrons, plus loin, dans un paragraphe spécial son étude détaillée. Contentons nous pour le moment de la constater par l'expérience suivante.

#### EXPÉRIENCE IV

**Injection intraveineuse de cultures de gonocoque en bouillon ascite.**

Le 8 mars 1896: d'une culture âgée de 15 jours en bouillon ascite on injecte 5 c. c. dans la veine marginale de l'oreille d'un lapin pesant 2350 grammes. Il n'y a pas de dyspnée de suite après l'injection. Une heure après on trouve l'animal étendu dans sa cage; il n'y avait toujours pas de dyspnée, mais une *forte diarrhée*. Quelques heures après, il se remettait, la respiration était précipitée.

Le 9 mars le poids est descendu à 2150, la température à 36°. La *perte* du poids est de 200 grammes; la chute du thermomètre de 3°. La diarrhée persiste encore. Les mouvements sont libres.

Le 10, le poids est à 2050 avec *perte* de 100 grammes sur le poids primitif. La température, 39°, est à peu près normale.

Le 11, nouvelle chute du poids à 2000, ainsi que de la température à 38°,5.

Le 12, chute de 100 grammes.

Le 13, la perte totale est de 450 grammes, c'est-à-dire 1/5 du poids total; et cela en 4 jours.

Le 14, l'*abaissement continue*: il est à 1780.

Le 15, à 1680. Le lapin *meurt*. Sa *perte totale en 7 jours* étant de 670 grammes pour un poids de 2350 grammes.

Voici un tableau qui rend bien compte de la perte de poids progressive, depuis le jour de l'injection, 8 mars, jusqu'à la mort du lapin, 15 mars :

| DATE                    | POIDS         | DIFFÉRENCE    |
|-------------------------|---------------|---------------|
| 8 Mars 1896. . . . .    | 2.350 grammes |               |
| 9 Mars 1896. . . . .    | 2.150 —       | — 200 grammes |
| 10 Mars 1896. . . . .   | 2.050 —       | — 100 —       |
| 11 Mars 1896. . . . .   | 2.000 —       | — 50 —        |
| 12 Mars 1896. . . . .   | 1.900 —       | — 100 —       |
| 13 Mars 1896. . . . .   | 1.900 —       | 0 —           |
| 14 Mars 1896. . . . .   | 1.780 —       | — 120 —       |
| 15 Mars 1896. . . . .   | 1.680 —       | — 100 —       |
| PERTE TOTALE, . . . . . |               | 670 grammes   |

Nous venons de voir que les injections sous-cutanée et intraveineuses de culture en milieu liquide bouillon-ascite donnaient naissance chez le lapin à des phénomènes toxiques manifestes. Mais une objection peut-être faite et on se demande si l'action n'est pas due tout simplement au milieu de culture.

**Expérience de contrôle.** — Il était nécessaire de pratiquer des expériences pour vérifier ou infirmer cette assertion.

## EXPÉRIENCE V

« Les expériences de contrôle avec injection intraveineuse du même milieu de culture stérile, ne produisent jamais de réaction semblable. Même une dose de 10 c. c. de bouillon-ascite injectée dans la veine ne produit que des phénomènes de suffocation légère et passagère. La température n'est que peu influencée (0°5) et la perte de poids ne dépasse pas 50 grammes, regagnés dans les 24 h. suivantes. »

*L'existence d'une toxine dans les cultures gonococciques ne fait pas de doute.* Il s'agissait d'étudier en passant divers points, en vue d'expériences ultérieures :

- 1° La localisation de la gonotoxine ;
- 2° Ses propriétés chimiques ;
- 3° Le mode de préparation de la gonotoxine concentrée.

**Localisation de la toxine du gonocoque.** — Dans la première partie, nous avons dit que Wassermann, Nicolaysen et les autres expérimentateurs localisaient la toxine du gonocoque dans le corps de ce microorganisme, qu'ils ne croyaient pas à son passage dans le milieu de culture. Nous avons donné les raisons de leur erreur à ce sujet. Nous allons essayer de préciser deux points très importants :

1° La toxine du gonocoque est-elle localisée dans le corps du gonocoque ?

2° La gonotoxine passe-t-elle dans le milieu de culture ?

Pour résoudre la première question, Finger, Wassermann, Schæffer, Nicolaysen avaient fait usage de la filtration des cultures, au moyen de la bougie Chamberland. Cette filtration qui donne de si bons résultats pour d'autres toxines, est défectueuse dans le cas particulier. La bougie Chamberland demande beaucoup de temps pour la filtration à cause de l'albumine dissoute, mais son inconvénient le plus grave est celui-ci ; elle retient en grande partie et même en totalité la gonotoxine.

Les résultats négatifs des auteurs précédents, le faisaient déjà présumer; les expériences avec la jéquiritine dûes à J. de Christmas et dont nous avons parlé, donnaient à penser que la bougie Chamberland ne laissait pas passer toutes les substances, comme l'abrine ou jéquiritine, capables d'être filtrées par un autre procédé; les insuccès obtenus avec les cultures du gonocoque dans le milieu bouillon-ascite devaient permettre d'affirmer cette assertion que la bougie Chamberland ne laissait passer que très peu ou pas de gonotoxine.

*Le procédé de filtration*, employé au laboratoire de J. de Christmas, tout en étant très simple donne d'excellents résultats et permet de résoudre la question. « Il suffit de filtrer une culture âgée de dix à 15 jours, soit à travers du papier stérile, soit sur une couche de talc. Il est facile d'obtenir un liquide exempt de gonocoques, car ceux-ci, grâce à leur vivacité, ne traversent pas le talc, ni le papier, et la culture est réellement débarrassée des germes. »

L'injection de la solution filtrée dans le système veineux produit à peu près les mêmes phénomènes que la culture non filtrée. Voici une expérience destinée à montrer l'effet comparatif de ces deux espèces de solutions.

## EXPÉRIENCE VI

### *Injectons intraveineuses de la solution filtrée et de la solution non filtrée.*

5 mars 1896. — Pour cette expérience on emploie une culture âgée de 8 jours, bien développée, où les gonocoques forment une couche épaisse au fond du vase. Le liquide au-dessus de cette couche est transparent. On filtre sur un papier Laurent; le microscope ne décèle aucun microcoque dans le liquide filtré.

Deux centimètres cubes de ce liquide sont injectés sur un lapin (n° 1) pesant 1930 grammes. La totalité des gonocoques restant au fond du vase est émulsionnée dans autant de bouillon qu'il y avait de liquide auparavant, et deux centimètres cubes sont injectés dans le système veineux d'un lapin pesant 2000 grammes (n° 2).

La température chez les deux lapins monté à 40°,4 chez le n° 1, et à 40°,7 chez le n° 2. Le troisième jour elle est à 40° chez les deux et le quatrième jour elle s'approche de la normale chez les deux: 39°,6 chez le n° 1 et 39°,7 chez le n° 2; elle se maintient les jours suivants à la normale.

Le poids est plus important à apprécier comparativement.

Voici deux tableaux qui mettent en vue ces résultats :

N° 1

| DATE                                 | POIDS         | DIFFÉRENCE    |
|--------------------------------------|---------------|---------------|
| 5 Mars 1896. . . . .                 | 1.930 grammes |               |
| 6 Mars 1896. . . . .                 | 1.800 —       | — 130 grammes |
| 7 Mars 1876. . . . .                 | 1.800 —       | 0 —           |
| 8 Mars 1896. . . . .                 | 1.750 —       | — 50 —        |
| 9 Mars 1896. . . . .                 | 1.730 —       | — 20 —        |
| 10 Mars 1896. . . . .                | 1.720 —       | * — 10 —      |
| 11 Mars 1896. . . . .                | 1.770 —       | + 50 —        |
| 12 Mars 1893. . . . .                | 1.850 —       | + 70 —        |
| * PERTE TOTALE . . . . . 210 grammes |               |               |

N° 2

| DATE                                 | POIDS         | DIFFÉRENCE   |
|--------------------------------------|---------------|--------------|
| 5 Mars 1896. . . . .                 | 2.000 grammes |              |
| 6 Mars 1896. . . . .                 | 1.880 —       | — 30 grammes |
| 7 Mars 1896. . . . .                 | 1.850 —       | — 60 —       |
| 8 Mars 1896. . . . .                 | 1.790 —       | 0 —          |
| 9 Mars 1896. . . . .                 | 1.790 —       | 0 —          |
| 10 Mars 1896. . . . .                | 1.780 —       | * — 10 —     |
| 11 Mars 1896. . . . .                | 1.800 —       | + 20 —       |
| 12 Mars 1896. . . . .                | 1.840 —       | + 40 —       |
| * PERTE TOTALE . . . . . 220 grammes |               |              |

Dans l'expérience précédente, on voit que la fièvre est un peu moins forte chez l'animal qui a reçu la culture filtrée ; l'animal se rétablit peut-être un peu plus vite, mais la différence est très minime.

Nous *concluons* à la suite des nombreuses expériences, faites depuis plus de deux ans, que la *toxine est d'abord localisée dans le corps des gonocoques* et que, de là, elle *diffuse dans liquide de culture au fur et à mesure que ceux-ci meurent*. Ce qui semble faire admettre cette hypothèse, c'est que les premiers jours de la culture, le liquide de filtration est peu toxique, comme nous l'avons observé aussi dans l'expérience de Wasserman, avec des cultures de trois jours ; au contraire, la couche de gonocoques est déjà toxique.

Même après la mort des gonocoques, la gonotoxine persiste

en partie dans leur corps. Le tracé 1 obtenu avec une culture vieille de 15 jours et dans laquelle tous les germes étaient morts, montre une intoxication aigue et une cachexie grave, suivies en général de la mort de l'animal (1).

**Action de la chaleur et de l'alcool sur la toxine.** — Ces propriétés de la gonotoxine sont des plus importantes.

*Action de la chaleur.* — Le chauffage ne détruit pas l'effet toxique, à condition de ne pas dépasser la température de coagulation de l'albumine dissoute dans le milieu liquide, qui supporte comme nous l'avons vu, une température plus élevée que celle du sérum du sang. Entre 50° et 70°, on peut chauffer sans inconvénient.

Les deux expériences suivantes démontrent d'un côté la conservation de la toxicité de la gonotoxine chauffée à 65° ; de l'autre, le peu de toxicité de la même gonotoxine chauffée à 95°.

## EXPÉRIENCE VII

Le 8 avril 96, un centimètre cube de la solution de toxine dans la glycérine (préparée comme nous le verrons plus loin), est chauffée pendant 5 minutes à 65°, puis injectée dans la veine de l'oreille d'un lapin n° 1, pesant 3270 grammes. La même solution est chauffée pendant cinq minutes à 95° et injectée sur un lapin de contrôle n° 2, du poids de 2300.

Le 9, la température du n° 1 est 40°6, celle du lapin de contrôle, n° 2 39°2 (normale).

Le 10, le n° 1 40°2, le n° 2 à sa température normale 39°4. Voici les tableaux des poids qui sont plus intéressants :

| DATES                                                                | POIDS         | DIFFÉRENCES   |
|----------------------------------------------------------------------|---------------|---------------|
| 9 Avril 1896. . . . .                                                | 2.370 grammes |               |
| 9 Avril 1896. . . . .                                                | 2.100 —       | — 270 grammes |
| 10 Avril 1896. . . . .                                               | 2.000 —       | — 100 —       |
| 11 Avril 1896. . . . .                                               | 1.930 —       | — 70 —        |
| 12 Avril 1896. . . . .                                               | 1.900 —       | — 30* —       |
| 14 Avril 1896. . . . .                                               | 2.000 —       | + 100 —       |
| 15 Avril 1896. . . . .                                               | 2.020 —       | + 20 —        |
| 16 Avril 1896. . . . .                                               | 2.100 —       | + 80 —        |
| 19 Avril 1896. . . . .                                               | 2.220 —       | + 120 —       |
| * PERTE TOTALE . . . . . 470 grammes                                 |               |               |
| Le poids initial n'a été atteint qu'au bout du 16 <sup>e</sup> jour. |               |               |

(1) Voir tracé 1.

| DATES                                            | POIDS         | DIFFÉRENCES  |
|--------------------------------------------------|---------------|--------------|
| 8 Avril 1896. . . . .                            | 2.300 grammes |              |
| 9 Avril 1896. . . . .                            | 2.250 —       | — 50 grammes |
| 10 Avril 1896. . . . .                           | 2.290 —       | + 40 —       |
| 11 Avril 1896. . . . .                           | 2.300 —       | + 10* —      |
| 12 Avril 1896. . . . .                           | 2.340 —       | + 40 —       |
| * PERTE TOTALE. . . . . 50 grammes               |               |              |
| Le poids initial est atteint au bout de 4 jours. |               |              |

*Action de l'alcool.* — L'action de l'alcool fort est très nette. Celui-ci précipite la toxine de la culture ; l'albumine du milieu est précipitée aussi et elle englobe la toxine.

Il est facile de se rendre compte de ces faits par les deux expériences suivantes démontrant que :

1° *L'albumine précipitée conserve toutes les propriétés toxiques et phlogogènes du liquide d'origine.*

## EXPÉRIENCE VIII

Une culture âgée de 30 jours, d'un volume de 100 c. c. est précipitée par l'alcool ; le précipité, après évaporation de l'alcool, est émulsionné dans 50 c. c. d'eau stérile et distillée.

Le 28 avril 90, on injecte 12 c. c. de cette émulsion dans le tissu sous cutané du ventre d'un lapin du poids de 2370 grammes.

Dix heures après l'injection, la température est de 40°6.

Le 29, elle se maintient à 40°3. Il y a un peu d'œdème à l'endroit de l'injection. La perte de poids est de 150 grammes.

Le 30, la température est de 40°. La tuméfaction est considérable autour de l'injection.

L'infiltration et l'œdème augmentent encore.

Le 2 mai, la température est normale à 39°5. Le poids est descendu de 50 grammes. On constate une tuméfaction de consistance dure qui occupe presque toute l'étendue du ventre.]

Le 3, le poids ainsi que la température sont stationnaires.

Le 6, augmentation de 20 grammes. L'infiltration diminue, elle est encore grande comme une main d'enfant. Température normale.

Le 9, augmentation de 30 grammes. Température normale. L'infiltration est à peu près stationnaire.

Le 13, augmentation de 10 grammes. Température normale. La tumeur est grande comme une pièce de 5 francs ; elle se ramollit et on constate un peu de fluctuation.

Le 16, perte de 10 grammes. A ce moment, la perte totale après l'injection a été de 270 grammes. Après 20 jours, cette perte est encore loin d'être regagnée. La fluctuation est aujourd'hui très nette.

Le 26, le poids initial est atteint. La température est normale. La tumeur ne change pas. Elle a été ouverte aujourd'hui par incision. Il s'est écoulé du pus épais, blanc. Examiné sous le microscope, on ne constate pas de microorganismes et les ensemencements sur milieux ordinaires sont restés stériles.

| DATES                                                  | POIDS         | DIFFÉRENCE    |
|--------------------------------------------------------|---------------|---------------|
| 28 Avril 1896. . . . .                                 | 2.370 grammes |               |
| 29 Avril 1896. . . . .                                 | 2.220 —       | — 150 grammes |
| 30 Avril 1896. . . . .                                 | 2.150 —       | — 70 —        |
| 2 Mai 1896 . . . . .                                   | 2.100 —       | — 50 —        |
| 3 Mai 1896 . . . . .                                   | 2.100 —       | 0* —          |
| 6 Mai 1896 . . . . .                                   | 2.120 —       | + 20 —        |
| 9 Mai 1896 . . . . .                                   | 2.150 —       | + 30 —        |
| 13 Mai 1896 . . . . .                                  | 2.160 —       | + 10 —        |
| 16 Mai 1896 . . . . .                                  | 2.150 —       | — 10 —        |
| 26 Mai 1896 . . . . .                                  | 2.370 —       | + 220 —       |
| * PERTE TOTALE . . . . . 270 grammes                   |               |               |
| Le poids initial n'est atteint qu'au bout de 28 jours. |               |               |

L'action de la culture précipitée par l'alcool en injection sous cutanée ressemble à celle obtenue avec les cultures pures, dont nous avons déjà parlé ;

2° *Le liquide qui reste, après précipitation par l'alcool, de l'albumine, n'est pas toxique.*

Voici une expérience à ce sujet :

## EXPÉRIENCE IX

Le 22 avril 1896, cinquante centimètres cubes d'une forte culture en bouillon ascite, âgée de 10 jours sont filtrés et précipités par l'alcool (150 c. c.).

Après filtration, l'alcool est évaporé et on ajoute suffisamment d'eau pour avoir un volume primitif de 50 c. c. 50. On injecte de cette solution 5 c. c. dans la veine d'un lapin pesant 2920 grammes.

Le tableau ci-dessus rend bien compte de l'inocuité de l'in-

jection : le poids au lieu de diminuer comme dans l'expérience précédente, augmente au contraire ; la température reste normale.

| DATES                           | TEMPÉRATURE | POIDS         | DIFFÉRENCE   |
|---------------------------------|-------------|---------------|--------------|
| 22 Avril 1896. . .              | 39°         | 2.920 grammes |              |
| 23 Avril 1896. . .              | 39°         | 2.950 —       | + 30 grammes |
| 24 Avril 1896. . .              | 39°.2       | 3.000 —       | + 50 —       |
| 25 Avril 1896. . .              | 39°.1       | 3.000 —       | 0 —          |
| Il n'y a pas de perte de poids. |             |               |              |

La localisation de la toxine dans le corps du gonocoque, son passage dans le milieu liquide, l'action de la chaleur, de l'alcool fort devaient nous donner un moyen d'isoler ou mieux de concentrer la toxine, de la rendre stable.

L'emploi de la glycérine avait donné de bons résultats à J. de Christmas pour la jequiritine ou abrimine.

### Mode de préparation de la gonotoxine concentrée en solution glycinée :

1° Les cultures d'un volume de 100 à 150 cent. cubes sont évaporées au bain marie à la température de 50°, en présence de 10 cent. cubes de glycérine pure.

2° Les cultures sont précipitées par l'alcool ; le précipité, après filtration, est enlevé du filtre, émulsionné avec une petite quantité de glycérine et placé au bain marie, à 50°, jusqu'à complète évaporation de l'alcool restant.

La solution glycinée se conserve longtemps sans perdre ses propriétés toxiques : des solutions datant de plus de 10 mois sont aussi actives maintenant qu'auparavant.

### Action de la solution concentrée de gonotoxine. —

La solution de gonotoxine ainsi préparée est très toxique et ses effets sont analogues à ceux que nous avons déjà vus.

*L'injection intraveineuse* d'un centimètre cube de la solution, mélangée d'eau, produit chez le lapin de 2 à 3 kilos, les mêmes phénomènes d'intoxication qu'une forte dose de culture mère : nous l'avons vu dans l'expérience qui concerne l'action de la chaleur sur la gonotoxine.

Dans le *tissu cellulaire*, elle occasionne une vive irritation.

« A l'*autopsie* des animaux morts à la suite d'injection de cette toxine concentrée, on ne constate pas d'altérations bien appréciables des organes. On observe surtout de l'œdème des reins, qui sont grossis, de consistance un peu molle ; la rate n'est pas augmentée de volume, et le foie ne montre rien, d'anormal. Dans le péritoine on trouve du liquide séreux, clair, en plus grande quantité qu'à l'ordinaire. Les poumons sont rouges, congestionnés, mais de consistance normale et renfermant partout de l'air. » (1)

**Action de la gonotoxine sur l'œil** — Après avoir déterminé l'action générale de la gonotoxine, il nous reste à démontrer son action locale.

## EXPÉRIENCE X

L'injection dans la *chambre antérieure de l'œil* demande certaines précautions de la part de l'opérateur, sous peine de voir l'expérience échouer. C'est ainsi qu'il faut éviter de blesser le cristallin en introduisant l'aiguille. Cet accident qui compliquerait fâcheusement l'expérience, est évité en employant une canule mousse qu'on introduit à travers une incision latérale. La plus grande difficulté consiste à éviter la sortie de l'incision de la substance injectée, car la contraction oculaire, occasionnée par la sortie de l'humeur aqueuse par l'incision cornéenne, peut faire sortir toute la toxine injectée qui, en conséquence, n'a pas le temps d'agir.

Prenons une culture âgée de 10 jours et précipitons-la avec trois fois son volume d'alcool à 90°. Après filtration sur un filtre stérile, le précipité est enlevé du filtre, émulsionné dans un peu d'eau stérile et chauffé doucement au bain-marie jusqu'à évaporation des dernières traces d'alcool. Si de cette émulsion on introduit une ou deux gouttes dans la chambre antérieure de l'œil *du lapin*, on observe des phénomènes d'inflammation d'une grande violence, qui se manifestent avec une rapidité remarquable. Une demi-heure après l'introduction, la conjonctive est le siège d'un œdème considérable, qui persiste plusieurs jours et qui est suivi d'une forte inflammation de la muqueuse, qui est rouge, gonflée, et qui couvre complètement la sclérotique.

Cette inflammation donne lieu, dans la suite à une vascularisation progressive qui finit par couvrir une partie de la cornée avec un fin réseau capillaire qui peut persister plusieurs mois après

---

(1) S. de Christmas: loc. cite

l'injection. Dans les 12 heures qui suivent l'introduction des gonocoques dans l'œil, on constate la formation de pus dans la chambre antérieure. La cornée devient trouble, l'iris est décoloré, injecté, couvert de masses fibrino-purulentes, et il se forme un véritable hypopyon. Souvent il se produit une ulcération des bords de la cornée, avec prolapsus du corps ciliaire à travers la cornée dont le tissu, à cet endroit, a subi une véritable fonte purulente. Cette ulcération a ceci de particulier qu'elle ne se produit pas à l'endroit même de la cornée où la toxine a été introduite, et qui, par conséquent, a été lésé, mais à un endroit éloigné qui, ordinairement, est situé à la base de l'iris et au bord extérieur. La situation de l'ulcère, à cheval sur la cornée et la sclérotique, s'explique par l'entraînement de la toxine injectée par le courant lymphatique sur son passage de l'espace de Fontana au plexus veineux. Quoi qu'il en soit, ce phénomène montre à l'évidence les propriétés pyogènes remarquables de cette toxine. (1)

Au lieu d'injecter une goutte de l'émulsion toxique, on peut l'évaporer à sec sur un verre de montre, introduire un petit fragment desséché, en ayant soin de faire une petite incision latérale de la cornée. Le fragment se désagrège et agit ensuite.

Quelle est la valeur de cette observation ? Elle est celle-ci :

A. Les gonocoques introduits étaient tous morts et ne pouvaient agir par eux-mêmes.

B. L'humeur aqueuse et la matière purulenteensemencées ne donnent que des résultats négatifs.

C. Le degré d'inflammation locale est proportionnel à la quantité de toxine comme l'ont démontré d'autres expériences.

Si au lieu du lapin on expérimente avec la chèvre, il se produit une inflammation violente. Le rétablissement demande plusieurs mois ; il y a des traces persistantes d'inflammation : l'opacité de l'œil d'une chèvre est, à l'heure actuelle assez intense, moins toutefois qu'au moment de l'expérimentation. La conjonctive est rétractée par formation de tissu cicatriciel.

*Injection de toxine dans le tissu interlamellaire cornéen.*

On se sert d'une aiguille fine.

Une réaction inflammatoire de l'œil se déclare malgré la petite quantité, une goutte : œdème conjonctival, hypopyon, etc., etc....

Injection de contrôle avec les gonocoques vivants. Effets identiques.

---

(1) J. de Christmas: loc. cit.

Dans ce cas, c'est bien la toxine qui agit car la cornée ensemencée, qui, examinée au microscope ne donna aucun résultat décélant la présence du gonocoque.

**Action de la gonotoxine sur la plèvre.** — Dans ce cas, on observe des propriétés suppuratives et phlogogènes de la gonotoxine.

Voici une expérience démonstrative :

## EXPÉRIENCE XI

Le 4 juin 1896, les toxines d'une culture de 100 centimètres cubes sont précipitées par l'alcool ; celui-ci est évaporé à une température basse et le précipité est émulsionné dans 10 c. c. d'eau. Un centimètre cube de cette émulsion est introduit dans la *plèvre droite* d'un *lapin* pesant 2200 grammes.

L'aiguille de la seringue est introduite parallèlement à la côte : de cette façon on ne risque pas de blesser le poumon. De plus, en faisant mouvoir l'aiguille, on sent par la résistance de la pointe, si celle-ci est libre ou non.

Le 5, le poids a baissé de 140 grammes. La température est de 40°, la respiration est saccadée.

Le 6, perte de 60 grammes avec 40° de température. La respiration est toujours saccadée.

Le même jour, le lapin est tué par saignée.

A l'*autopsie* on trouve une quantité considérable (environ sept centimètres cubes) de pus grisâtre, assez liquide, dans la plèvre droite. La plèvre gauche est normale. On trouve les deux séreuses également tapissées de *pus* épais, jaune, très adhérent, formant des pseudo-membranes, de l'aspect d'une pseudo-membrane du croup. Elles sont assez difficiles à enlever de la séreuse qui en dessous est injectée. Sous le microscope et en culture ce pus s'est montré stérile.

Voici le poids et la température :

| DATES                              | POIDS         | TEMPÉRATURE | DIFFÉRENCE    |
|------------------------------------|---------------|-------------|---------------|
| 4 Juin 1896. . . .                 | 2.200 grammes | 39°         |               |
| 5 Juin 1896. . . .                 | 2.060 —       | 40°         | — 140 grammes |
| 6 Juin 1896 (mort)                 | 2.000 —       | 40°         | — 60 —        |
| PERTE TOTALE . . . . . 200 grammes |               |             |               |

*L'expérience de contrôle* faite avec quantité égale d'albumine d'ascite non ensemencée de gonocoques et précipitée par l'alcool, *ne donne pas de résultat*. Tout au plus, si on dépasse 2 c. c. se produit-il une légère exsudation séreuse avec quelques leucocytes. Pas de pus, de réaction inflammatoire semblable à la précédente.

### **Action de la gonotoxine sur les muqueuses.**

*Action de la gonotoxine sur la muqueuse uréthrale des animaux.* — L'action de la gonotoxine est nulle sur la muqueuse uréthrale, ce qui est conforme aux résultats des expérimentateurs qui avaient pratiqué sur la même muqueuse, l'inoculation de pus ou de cultures gonococciques.

*Action de la gonotoxine sur la conjonctive oculaire des animaux.* — Il en est de même sur la conjonctive oculaire même après l'introduction de fortes quantités de toxine et suture conjonctive pour éviter la sortie de la substance introduite.

**Action de la gonotoxine sur la muqueuse uréthrale humaine.** — L'action sur l'urèthre humaine que nous avons pu vérifier sur nous-même, est au contraire remarquable à plusieurs points de vue. L'expérience faite sur M. A. T..., étudiant en médecine, est conforme à ce que nous avons observé sur nous-même.

## **EXPÉRIENCE XII**

M. A. T..., étudiant en médecine, n'a jamais eu de blennorrhagie. Il n'a actuellement aucune trace d'écoulement ou d'irritation de l'urèthre. L'urine est claire, sans sédiment, acide. Le 28 Mai 1896, on lui injecte dans l'urèthre, à l'aide d'un tube en verre introduit à trois centimètres de profondeur et adapté à une seringue, environ 1 c. c. d'une émulsion de toxine préparée en précipitant par l'alcool, comme il a été dit plus haut, la totalité de l'albumine dans une culture vigoureuse de gonocoques, en bouillon-ascite, vieille de 10 jours. Après filtration, le précipité qui renferme la totalité de la toxine, est émulsionné dans 5 c. c. d'eau et placé dans l'étuve à 40° jusqu'à complète disparition de l'alcool adhérent à l'albumine. L'injection n'occasionne aucune douleur. Les masses injectées sont laissées en contact avec la muqueuse pendant quelques minutes.

Deux heures après, M. T... ressent un léger picotement et un peu de brûlure au méat.

Deux heures plus tard, c'est-à-dire quatre heures après l'injection, on fait sortir en comprimant l'urèthre, une grosse goutte de pus jaune de consistance épaisse. Examiné au microscope, le pus se montre composé de leucocytes mono ou polynucléaires et il renferme de nombreux microorganismes de différentes formes, surtout des microcoques en zooglées se colorant très bien par le violet de gentiane et ne se décolorant pas après traitement par l'iode. On n'aperçoit pas de gonocoques. L'urine émise en ce moment est trouble, elle tient en suspension un gros nuage de pus et de mucus absolument semblable à l'urine d'une véritable blennorrhagie. L'émission est accompagnée de douleurs cuisantes et brûlantes plus fortes à la fin qu'au commencement.

Dans le courant de la journée il est facile de faire sortir de l'urèthre, à un intervalle d'une à deux heures, une goutte de pus pareille à celle décrite, mais renfermant beaucoup moins de microorganismes. La miction est toujours accompagnée de sensations de cuisson. Le lendemain matin, le méat est collé : en écartant les lèvres, on fait sortir une goutte de liquide séro-purulent, moins épais que celui de la veille. L'urine émise le matin est encore trouble. Dans la journée la sécrétion diminue et en urinant la sensation de cuisson disparaît. Les jours suivants, tout rentre dans l'ordre, on ne trouve le matin, en comprimant l'urèthre, qu'une gouttelette de muco-pus, qui disparaît dans quatre ou cinq jours ; après ce laps de temps, il ne reste plus rien de l'irritation uréthrale.

Cette inflammation uréthrale est intéressante à plusieurs points de vue, et son étude pourra éclairer certains côtés de la véritable blennorrhagie. Il est facile de se convaincre qu'elle est due uniquement aux toxines, qui se trouvent formées tant dans le milieu de culture albumineux que dans le corps même des gonocoques. Il est évident qu'il ne peut être ici question d'un effet irritatif de gonocoques vivants : on s'était auparavant convaincu de la mort des germes par de nombreux essais, qui tous avaient démontré que le faible nombre de gonocoques qui quelquefois restent vivants dans une culture vicieuse de 10 jours, étaient tous tués par le traitement par l'alcool fort. Du reste l'examen microscopique du pus n'a jamais montré la présence de gonocoques, et la courte durée de l'inflammation ainsi que son acuité exclut toute idée d'une infection microbienne,

On peut qualifier d'extraordinaire la vitesse avec laquelle la muqueuse uréthrale réagit à l'application de la toxine. Il vient d'être dit, dans l'expérience relatée, que déjà quatre heures après l'injection on peut faire sortir une grosse goutte de pus ; mais dans d'autres essais, qui avaient pour but de fixer le moment où la première trace de l'inflammation se fait sentir, j'ai pu me convaincre que l'irritation uréthrale devient visible déjà une heure

après l'injection et quelquefois même moins. Si, ce délai passé, on introduit une fine pipette dans l'urèthre, on peut recueillir une petite quantité de liquide renfermant déjà de nombreux leucocytes. L'examen minutieux de la première sécrétion, montre en outre que



FIG. 1.

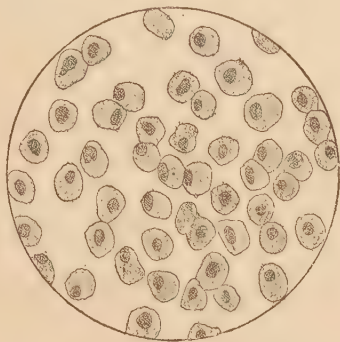


FIG. 2.

la toxine, commence par attaquer la couche épithéliale composée de cellules cylindriques qui tapissent l'urèthre, car on trouve dans la première goutte une quantité considérable de ces cellules. Un peu plus tard ce sont les leucocytes qui dominent et on ne distingue plus les cellules cylindriques. (Voir fig. 1 et 2.)

Ce fait confirme l'observation de Bumm et celle de Finger, que les gonocoques commencent par attaquer la couche épithéliale tant dans l'urèthre que dans la conjonctive, avant que l'émigration leucocytaire s'aperçoive.

Si le début de cette irritation, due à la gonotoxine ressemble en tous points à une véritable blennorrhagie, sa fin lui ressemble aussi. On voit la sécrétion, de purulente qu'elle était au commencement, devenir plus liquide et transparente. Le pus diminue et le liquide est à la fin presque clair. Mais la sécrétion ne s'arrête pas brusquement ; comme dans la véritable blennorrhagie, elle traîne et disparaît relativement longtemps après que toute trace d'inflammation a disparu. Je n'ai jamais essayé d'injecter de fortes quantités de toxines, et l'inflammation observée a toujours eu un caractère bénin et de courte durée, mais je ne doute pas que l'application de fortes doses ne puisse produire des phénomènes de violente inflammation et de plus longue durée. (1)

L'urèthre n'est *nullement* immunisé par une seule ou plusieurs injections de toxines, comme l'ont démontré les expériences faites à un mois d'intervalle, et plusieurs fois. Il y a là une

---

(1) J. de Christmas : loc. cit.

certaine analogie avec ce que l'on voit en clinique où un urèthre lésé une seule fois par le gonocoque, peut de nouveau et souvent être affecté de même.

**Expérience de contrôle avec la toxine du staphylocoque doré.** — Les expériences faites avec d'autres microorganismes trouvés dans une uréthrite aiguë, dans un abcès sous-cutané du lapin, soit enfin avec le staphylocoque doré, dont J. de Christmas avait isolé depuis longtemps déjà la toxine, ces expériences, disons-nous, ne donnent que des résultats négatifs.

Voici l'expérience faite avec la toxine du staphylocoque doré :

### EXPÉRIENCE XIII

Une forte culture de staphylocoque doré dans du bouillon peptonisé et sucré, est précipité par l'alcool fort. Le précipité, après filtration, est émulsionné dans un peu d'eau et chauffé pendant une heure à 65°. De cette émulsion on injecte environ 2 c.c. dans un urèthre humain. L'injection ne produit aucune douleur ou irritation. L'examen de l'orifice uréthral, dans les 24 heures suivantes, ne révèle aucune irritation de la muqueuse, aucune trace d'inflammation ou de suppuration.

On peut donc dire que l'action de la gonotoxine sur l'urèthre humain est caractéristique et permet dans les cas douteux sur l'authenticité des cultures de porter un diagnostic précis.

Les expériences que nous venons de relater démontrent l'existence de la toxine du gonocoque, font connaître son action locale, générale, l'analogie entre ses effets et ceux de la blennorrhagie, du moins dans les limites du possible. Il était naturel de se demander s'il pouvait se former une antitoxine dans les humeurs des animaux inoculés.

---

## B. — ANTITOXINE

---

### CHAPITRE I<sup>er</sup>

---

**Conditions d'étude expérimentale de l'antitoxine du gonocoque.** — Wassermann, après avoir relaté ses expériences sur la gonotoxine, s'exprime ainsi : « tous mes essais d'immunisation contre cette toxine ont échoué. »

Wertheim qui, par des injections de cultures de gonocoques, avait réussi à produire de la fièvre et une tuméfaction de l'articulation de la main et du coude, dit : (il ya déjà plusieurs années) que j'ai essayé d'obtenir l'immunité contre le gonocoque, mais j'ai toujours échoué. » (1)

Après ces insuccès des auteurs, les succès obtenus avec la gonotoxine par l'expérimentation sur l'homme, sur les animaux, il était intéressant d'étudier l'immunisation. Puisque la toxine agissait d'une façon aussi manifeste sur l'économie, il était rationnel de penser qu'à son tour, l'organisme devait, par analogie avec ce qui se passe dans d'autres infections, réagir, élaborer un contre-poison, une antitoxine.

Mais avant d'entreprendre cette étude, il était logique de se demander dans quelles conditions elle pouvait être possible, et de connaître la valeur qu'on devait attribuer aux résultats obtenus dans ce cas. Fixer, en somme, les conditions des expériences, en mesurer les résultats, tel était le point indispensable à établir.

Plusieurs problèmes se posaient :

Que fallait-il entendre par immunisation dans le cas particulier ?

Sur quel symptôme constant s'appuyer pour prouver sa réalité, pour mesurer son intensité ?

Une fois ce symptôme établi, quel en était la valeur ?

Était-il sous la dépendance directe de la toxine ? Ce point était indispensable à établir, puisque son intensité plus ou moins

---

(1) Semaine Médicale ; loc. cit

grande, sa disparition devait servir à mesurer le pouvoir antitoxique du sérum antitoxique.

Enfin, quelles séries d'expériences fallait-il suivre ?

Telles étaient les questions qu'il était nécessaire de résoudre avant d'expérimenter.

**Signification de l'immunisation.** — Dans certaines infections généralisées, comme le charbon, les injections streptococcique, pneumococcique, les microbes circulent dans le sang; tout en sécrétant leur toxine, ils entament, pour ainsi dire, une lutte corps à corps, avec les phagocytes et les macrophages. Il n'en est pas de même dans les expériences citées plus haut : la gonotoxine seule agit, et les effets locaux et généraux sont dûs à elle seule. Entendre par immunisation dans ce cas « l'état de résistance qui permet à l'organisme d'anéantir le germe pathogène », il ne peut en être question, puisqu'il n'y a pas de microbe ou que celui-ci est mort dans le sang peu de temps après l'injection ; il fallait entendre, en l'espèce, par immunisation, *le degré d'accoutumance de l'animal d'expérience envers la gonotoxine*. Si l'animal résistait d'une façon assez manifeste, à la gonotoxine, la réalité de l'antitoxine dans son organisme était démontrée.

**Recherche d'un signe constant** — D'après quels signes reconnaître l'existence et l'intensité de l'antitoxine ?

Reportons-nous aux expériences précédentes et recherchons parmi les effets divers de la gonotoxine, celui qui présente non seulement une constante, mais aussi une constante mesurable, facile à enregistrer, à démontrer.

*Effets locaux.* — La gonotoxine, avons-nous dit, produit des effets locaux et généraux, des abcès sous-cutanés, à contenu septique ou aseptique, des réactions inflammatoires et suppuratives sur les séreuses, sur l'œil, sur l'urèthre humain; un changement de température, un abaissement de poids de l'animal. Mais ces phénomènes varient suivant l'animal, suivant son âge, suivant le lieu d'élection de l'injection. C'est ainsi que chez la chèvre il ne se produit pas d'abcès sous-cutanés tandis qu'il s'en produit chez le lapin, plus sur les jeunes que sur les adultes ; que les injections intra-veineuses, très actives au point de vue général, ne produisent pas d'abcès sous-cutanés chez le lapin, tandis que l'injection sous-cutanée en produit chez ce même animal.

*Effets généraux.* — Quant à l'intensité de la réaction locale

ou générale, elle est toujours, à part la température, proportionnelle à la dose de toxine injectée.

Que penser de ces signes?

*Changement de température.* — Le changement de température est très variable, de courte durée. En effet, tandis qu'une injection de 5 à 10 c. c. d'une culture vigoureuse de gonocoques vieille de 8 à 10 jours ne produit, chez un lapin adulte, qu'une légère diminution de température, celle-ci au bout de 24 heures est revenue à la normale ; si au contraire, chez ce même lapin, on injecte 15 à 20 c. c. de la même culture, la température commence à monter à 40°2, 40°5, pour descendre souvent à 37°, 36°. Au bout de 48 à 72 heures la normale est atteinte. Si on augmente encore la dose, la chute est plus grande et l'animal périt en hypothermie.

*Variations du poids de l'animal d'expérience.* — La perte de poids est au contraire un signe constant ; elle est proportionnelle à la dose de toxine injectée ; l'animal met un temps appréciable avant de reprendre le poids initial. Elle ne se produit pas avec le bouillon stérile. Les tableaux que nous avons publiés dans le chapitre précédent le prouvent surabondamment. Les nombreuses expériences exécutées sur les lapins confirment ces assertions. Ainsi, un lapin de poids moyen qui s'habitue assez facilement à une dose de 5 à 10 c. c. de toxine avec une perte de poids de 100 grammes environ, perd au contraire 300 grammes, si on injecte 20 à 30 c. c. en une fois.

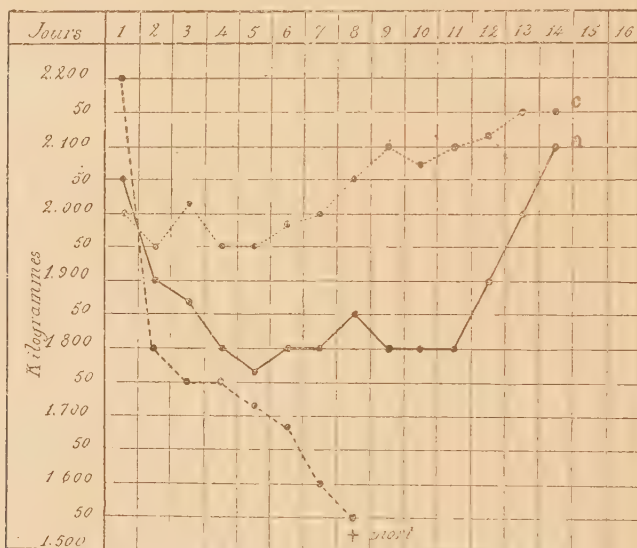
« Cette perte de poids, évaluée sur une cinquantaine d'animaux d'expérience, varie entre 200 et 350 grammes pour des lapins de grandeur moyenne (2.000 à 2.500 grammes) à qui on injecte 2 c. c. de culture par kilogramme. La presque totalité de la perte est atteinte dans les premières 48 heures qui suivent l'injection. Elle augmente les premiers 5 à 6 jours, ensuite le poids reste stationnaire quelques jours pour se relever peu à peu. Quelquefois elle se relève assez subitement pour s'approcher du poids initial, mais la perte après l'injection d'une bonne toxine ne sera pas gagnée avant 10 à 12 jours » (1). Nous avons vu dans l'expérience relative à l'injection sous-cutanée de toxines qu'il a fallu 28 jours.

Le tracé suivant résume les notions relatives au poids : dose, effet brusque, perte longue à regagner, moyen facile à enregistrer ; effets nuls chez un animal contrôlé.

---

(1) J. de Christmas : loc. cit.

Il indique la courbe du poids : *a* chez un lapin ayant reçu 2 c. c. de toxine par kilog. dans la veine, *b* indique le développement de la cachexie chez un lapin ayant reçu une émulsion de gonocoques dans leur milieu de culture, la dose injectée est la totalité des gonocoques dans une culture de 100 c. c. de bouillon ascite âgée de 10 jours; *c* est la courbe de poids d'un lapin de contrôle ayant reçu 5 c. c. de bouillon-ascite non ensemencé dans la veine.



Donc : la perte de poids est un signe constant et facile à enregistrer.

*Action phlogogène.* — Que penser de la réaction phlogogène locale? Il est certain qu'elle est proportionnelle à la quantité de toxine injectée, mais comment la mesurer d'une façon pour ainsi dire mathématique? Comment s'en servir pour apprécier la valeur antitoxique, l'enregistrer? Celle-ci ne pouvait tout au plus constater, qu'il y a une condition : c'est que la réaction phagocytaire fut complètement supprimée. Or, on ne pouvait déjà compter sur un tel résultat.

*Les variations du poids de l'animal d'expérience, constituent le critérium pour l'étude de l'antitoxine.* — C'est après toutes ces considérations que la variation du poids à

semblé se présenter comme le meilleur signe pour apprécier le pouvoir antitoxique.

Ce choix étant fait, il était de première importance d'interpréter la cause de ce signe et de voir si en dehors de la gonotoxine, rien ne pouvait le produire.

La perte de poids se manifeste en même temps qu'une diarrhée assez profuse, un état d'abattement de l'animal qui refuse toute nourriture pendant quelque temps.

Mais la diarrhée, du moins, dans certains cas, comme à la suite des injections sous-cutanées chez les lapins, ne semble pas, en apparence seule en cause. Dans ce cas, nous avons vu qu'il se formait des abcès multiples, les uns septiques, les autres aseptiques, avec tendance à l'extension, à la suppuration de longue durée. Cette suppuration, pouvait-on dire, entraîne quelquefois la cachexie et celle-ci entraîne la diarrhée : aussi la perte de poids est-elle due uniquement à la longue durée de la suppuration. Ce raisonnement n'est applicable que dans le cas d'injections sous-cutanées chez le lapin.

On peut aller au-devant de ces objections, au sujet du rôle de la suppuration et de la cachexie, en ce qui concerne la perte de poids, en considérant les faits suivants qui en démontrent l'inanité :

1° Dans les cas où il n'existe que quelques abcès insignifiants ou seulement quelques masses indurées chez le lapin, la diarrhée, accompagnée de perte de poids se manifeste ;

2° Dans ce cas, la diarrhée est toujours proportionnelle à la dose de toxine ;

3° Lorsqu'on diminue ou augmente la dose de toxine, la diarrhée est plus moins profuse, même lorsqu'il s'agit d'injections sous-cutanées chez le lapin et alors qu'il y a abcès soit petits et insignifiants, soit étendus et avec suppuration ;

4° Dans certains cas, la diarrhée diminue ou disparaît en même temps que la perte de poids, tandis que la suppuration continue ;

5° Chez la chèvre, même en injection sous-cutanée, la toxine ne produit pas d'abcès, et malgré cela, la diarrhée accompagne la perte de poids, augmente, diminue, s'arrête avec elle ;

6° Enfin, les injections intra-veineuses de toxine, même chez le lapin, ne produisent pas d'abcès, et malgré cela, la diarrhée et la perte de poids marchent de pair : la suppuration n'a rien à faire dans ce cas.

Après ces considérations, nous pouvons dire que la perte de

poids est en grande partie sous la dépendance de la diarrhée et que celle-ci est due exclusivement à l'action de la toxine.

Comme conclusion, la nécessité de prendre la perte de poids comme critérium de l'action toxique de la gonotoxine s'impose.

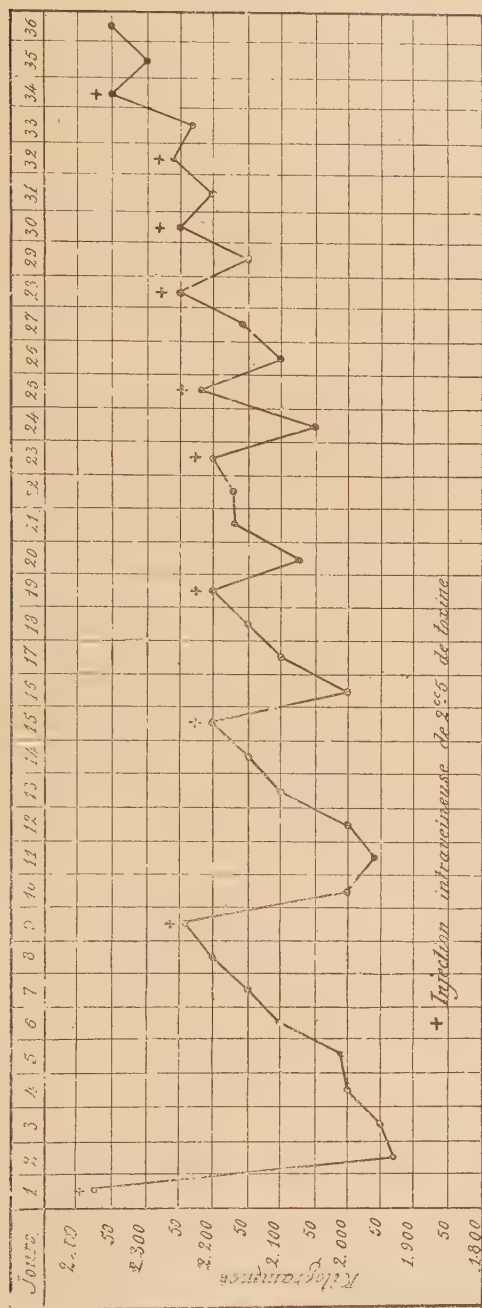
Les conditions des expériences une fois établies, il était peut-être possible d'obtenir le pouvoir antitoxique chez les animaux.

**Choix de l'animal d'expérience.** — Le lapin et la chèvre avaient servi à vérifier les effets de la gonotoxine; les essais pour l'immunisation ont été faits d'abord avec le premier puis avec la chèvre.

Quels sont les *avantages* et les *désavantages* de l'un et de l'autre?

*Le lapin.* — Le lapin est un animal de laboratoire, facile à tous les points de vue, à se procurer, à caser, à observer; mais, nous venons de le voir il est sujet, par l'injection sous-cutanée de toxine, aux abcès sous-cutanés, capables d'altérer les résultats des expériences; il n'en est pas de même, il est vrai, quand on fait des injections intra-veineuses, mais même dans ce cas, il y a des inconvénients: « L'injection intra-veineuse permet d'obtenir une immunisation rapide et très manifeste, mais contre des doses qui restent forcément faibles. Nous avons vu que la toxine introduite directement dans le sang produit une réaction violente et qu'elle occasionne la mort des animaux (lapins), qu'elle dépasse 2 à 3 c. c. par kilogramme d'animal. Si la dose est moindre, l'animal résiste après avoir été gravement atteint, et, après une perte de poids de 2 à 400 grammes, il se remet dans le délai de 8 à 12 jours. Si après ce rétablissement, on renouvelle l'injection, on observe que la perte de poids est moins sensible que la première fois. Le rétablissement arrive plus promptement et les injections suivantes n'occasionnent que des phénomènes d'intoxication de plus en plus faibles et dont le degré d'intensité se mesure sur la balance avec une régularité parfaite comme le démontre le tracé 2 qui donne le changement de poids d'un lapin ayant reçu à chaque inoculation 2 c. c. 5 de toxine dans la système sanguin. La perte de poids, qui, à la première injection était de 400 grammes environ et qui n'a été regagnée qu'au bout de 10 jours, n'était, à la seconde, que de 200 grammes, regagnés en 7 jours, et elle va toujours en diminuant jusqu'à la dixième injection où elle est à peine visible.

Mais l'accoutumance n'est vraiment parfaite dans ce cas que pour la dose de 1 c. c.; dès qu'on l'augmente, on voit les oscilla-



tions reprendre, quoique moins fortes, et le lapin en apparence immunisé, ne l'était que faiblement, car il réagissait contre une injection sous-cutanée de 20 c. c. par une perte de poids presque aussi forte que celle d'un lapin neuf. Son sérum ne possédait aucun pouvoir antitoxique appréciable. » (1)

Quoique le sérum du lapin contienne une antitoxine, cela ne fait aucun doute, il n'est pas possible toutefois de se servir du sérum de cet animal, car il n'est pas suffisamment antitoxique dès qu'on injecte une dose plus forte de toxine.

*La chèvre.* — La chèvre au contraire présente de réels avantages.

Tout d'abord l'injection sous-cutanée de toxine ne produit pas d'abcès dans le tissu cellulaire : tout au plus, si les injections sont nombreuses et très fortes, peut-on observer des nodosités.

Leur contenu examiné au microscope, ne décèle pas de microbes; de plus elles disparaissent assez rapidement sans laisser aucune trace; elles ne semblent nullement gêner l'animal. Ainsi sur ce point les résultats des expériences conservent toute leur rigueur.

Toutefois, à cause de l'extrême sensibilité de cet animal à la gonotoxine, l'immunisation, comme l'ont montré une série d'expériences, est longue à obtenir, et les résultats que nous publions ne doivent pas être considérés comme définitifs. Leur valeur ne pourra être appréciée que plus tard. Deux chèvres qui depuis 15 mois environ, ont reçu une dose de plus de 3000 c. c. de toxine, réagissent encore quand on leur injecte 100 à 150 c. c. de culture. La perte de poids est de 2 kilos à 3 k. 1/2, le poids normal de la chèvre étant de 34 à 36 kilos. Il faut 8 à 10 jours pour le rétablissement à la normale.

---

(1) J. de Christmas loc. cit.

## CHAPITRE II

---

**Étude expérimentale de l'antitoxine.** — Des chèvres qui pendant un an environ, avaient reçu chacune en tout 3.200 grammes de toxine, par doses croissantes ont servi aux expériences suivantes. On leur injectait des toxines tous les huit ou quinze jours, suivant le rétablissement plus ou moins long à la santé; on alla jusqu'à 200 grammes en un jour. Alors que l'animal était encore sous l'influence de la toxine, le pouvoir antitoxique du sérum était relativement faible; au contraire, vers la fin de la période qui séparait deux injections successives, alors que l'antitoxine était en plus grande quantité, les résultats étaient meilleurs.

On pratiqua la saignée tous les quinze jours après la dernière injection et on exécuta une série d'expériences sur les lapins en injectant en même temps l'antitoxine et la toxine.

Dans la première série on rechercha les effets du sérum antitoxique sur le poids de l'animal; dans la seconde série on vérifia au contraire l'action de l'antitoxine sur les effets locaux provoqués par la toxine.

Les résultats ont été les suivants;

*1° Le sérum prévient la perte de poids qui a toujours lieu après une injection de toxine.*

Les deux expériences suivantes le prouvent :

### EXPÉRIENCE XIV

**A. Injection de toxine et d'antitoxine dans le système veineux :**

Le 3 mai 1897, un lapin (n° 1) du poids de 2.030 grammes reçoit 2,5 c.c. de sérum antitoxique dans la veine de l'oreille. Une heure après il reçoit 2,5 c.c. d'une culture filtrée et âgée de 10 jours dans la veine de l'autre oreille. En même temps la même dose du

même liquide est injectée dans la veine d'un lapin de contrôle (n°2) pesant 2.050 grammes.

Le second jour la température du n° 1 est de 40°; celle du n° 2: 39°.8.

Le n° 1 regagne dans les 24 heures la perte insignifiante de 30 grammes; tandis que le n° 2 (contrôle), perd 250 grammes en 48 heures.

Voici les tableaux comparatifs des poids:

N° 1

| DATES                 | POIDS         | DIFFÉRENCE   |
|-----------------------|---------------|--------------|
| 3 Mai 1897 . . . . .  | 2.030 grammes |              |
| 4 Mai 1897 . . . . .  | 2.000 —       | — 30 grammes |
| 5 Mai 1897 . . . . .  | 2.030 —       | + 30 —       |
| 6 Mai 1897 . . . . .  | 2.010 —       | — 20 —       |
| 7 Mai 1897 . . . . .  | 2.000 —       | — 10 —       |
| 8 Mai 1897 . . . . .  | 2.020 —       | + 20 —       |
| 10 Mai 1897 . . . . . | 2.050 —       | + 30 —       |
| 12 Mai 1897 . . . . . | 2.070 —       | + 20 —       |

N° 2

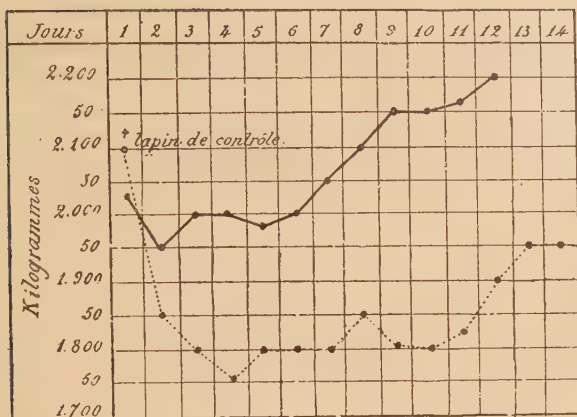
| DATES                 | POIDS         | DIFFÉRENCE    |
|-----------------------|---------------|---------------|
| 3 Mai 1897 . . . . .  | 2.050 grammes |               |
| 4 Mai 1897 . . . . .  | 1.880 —       | — 170 grammes |
| 5 Mai 1897 . . . . .  | 1.800 —       | — 80 —        |
| 6 Mai 1897 . . . . .  | 1.780 —       | — 20 —        |
| 7 Mai 1897 . . . . .  | 1.800 —       | + 20 —        |
| 8 Mai 1897 . . . . .  | 1.800 —       | 0 —           |
| 10 Mai 1897 . . . . . | 1.800 —       | 0 —           |
| 13 Mai 1897 . . . . . | 1.820 —       | + 20 —        |

**B. Injection de toxine et d'antitoxine dans la veine.**

Deux lapins reçoivent chacun 3 c.c. de toxine dans la veine de l'oreille. Le n° 1 reçoit en outre (quatre heures après) 3 c.c. d'antitoxine.

La chute chez ce dernier est insignifiante (50 grammes) et regagnée dans les 24 heures suivantes; tandis qu'elle est de 250 grammes chez le lapin (n° 2) de contrôle, qui n'a pas encore regagné son poids initial 17 jours après.

Le tracé suivant est le résumé des variations de poids des deux lapins.



2° Le sérum antitoxique neutralise l'effet phlogogène de la toxine. — Les expériences sur la plèvre et dans la chambre antérieure de l'œil permettent d'affirmer ces assertions.

#### G. Antitoxine et toxine dans la plèvre.

### EXPÉRIENCE XV

Le 27 juillet 1897, un lapin adulte reçoit dans la plèvre droite une injection de 0,5 c.c. de toxine précipitée et émulsionnée dans un peu d'eau. En même temps on lui injecte 10 c.c. de sérum antitoxique dans le tissu sous-cutané.

Un lapin de contrôle reçoit la même dose de toxine émulsionnée dans la plèvre droite.

Vingt-quatre heures après, on tue les animaux par saignée.

A l'autopsie on trouve chez le lapin de contrôle une forte quantité de pus liquide et du pus épais dans la plèvre.

Chez le lapin qui avait reçu le sérum antitoxique, on trouve une très faible quantité de liquide louche non purulent dans la plèvre, aucune trace de fausses membranes purulentes présentes chez l'autre.

### EXPÉRIENCE XVI

#### D. Antitoxine et toxine dans la chambre antérieure de l'œil du lapin.

Le 22 mai 1897, un lapin reçoit 5 c. c. de sérum antitoxique dans la veine. Trente minutes après, on introduit un fragment de toxine à l'état sec dans la chambre antérieure à travers une petite incision latérale. Un lapin de contrôle reçoit la même dose de toxine dans l'œil, mais sans antitoxine.

Le 23, chez les deux lapins il y a de l'œdème de la conjonctive, du trouble de la cornée et de l'hypopyon, mais tous ces phénomènes sont bien plus accentués chez le lapin de contrôle que chez l'autre.

Le 26, chez le lapin de contrôle on constate une très forte ophtalmie : hypopyon considérable, opacité complète de la cornée, œdème et injection de la conjonctive.

Tous ces phénomènes sont tous beaucoup plus faibles chez le lapin immunisé.

Le 23 avril, chez le lapin de contrôle : l'œil est toujours le siège d'une forte inflammation avec vascularisation d'une grande partie de la cornée.

Chez le lapin immunisé, tous les phénomènes inaffmatoires qui avaient disparu dans l'espace de quelques jours, sont nuls ce jour-là : il n'y a plus aucune trace d'inflammation.

**Valeur proportionnelle de la toxine et de l'antitoxine.** — Si le pouvoir antitoxique du sérum était manifeste, il était intéressant de connaître la valeur proportionnelle du sérum et de l'antitoxine. C'est là un point difficile à établir « parce qu'il est impossible de fixer la dose léthale de la gonotoxine en injection hypodermique et parce qu'il faut toujours tenir compte, dans les injections intra-veineuses, des perturbations produites sur l'organisme par l'introduction de doses massives de liquide dans le système circulatoire » (1).

D'après les résultats obtenus par une série d'expériences sur les animaux adultes du poids de 2.500 grammes, voici une moyenne relative : « la dose léthale moyenne de toxine en injection intra-veineuse est de 5 c. c. pour les animaux de cette taille. En leur injectant 2 c. c. d'antitoxine, non seulement on n'observe pas de mort, mais la chute de poids se tient entre 50 et 100 grammes, regagnés dans les 24 à 48 heures suivantes. Si on descend à des doses inférieures d'antitoxine, les résultats deviennent moins nets et les oscillations reprennent comme chez les animaux de contrôle » (2).

**Valeur thérapeutique du sérum de chèvre.** — Les expériences précédentes nous permettent de faire ressortir 2 points au sujet du sérum de chèvre.

Il existe une antitoxine dans le sérum.

Cette antitoxine a arrêté chez le lapin le développement des symptômes locaux et généraux occasionnés par la gonotoxine.

Quelle est la valeur thérapeutique, à l'heure actuelle, de ce

---

(1) J. de Christmas.

(2) Id.

sérum antitoxique ? Si on s'en rapporte à la réaction encore persistante de la chèvre à la suite de doses assez fortes de gonotoxine, si d'autre part on considère que depuis un an les chèvres n'ont pu être encore immunisées entièrement malgré le grand nombre d'injections de toxine, il serait prématuré de penser qu'avec des doses moyennes, en prenant pour se guider dans les doses le poids de l'animal, ou puisse arrêter une blennorrhagie à son début ou en pleine évolution, ou à la période chronique. Toutefois les résultats encourageants des expériences précédentes, nous font espérer qu'en prolongeant le temps, nécessaire au sérum de chèvre, pour devenir suffisamment antitoxique, on pourra arriver à constituer une sérothérapie de l'infection blennorrhagique, à faire disparaître du cadre nosologique toutes les complications de la blennorrhagie. Ce jour-là l'arsenal thérapeutique anti-blennorrhagique aura vécu.



## CONCLUSIONS

---

Dans les pages précédentes nous venons de relater les résultats négatifs ou incomplets des expérimentateurs au sujet de la toxine du gonocoque ; de poser les conditions d'étude de la gonotoxine ; de démontrer son existence, son action locale et générale ; nous avons essayé de déterminer l'existence de l'antitoxine, de son pouvoir réel sur les animaux intoxiqués par la gonotoxine. Voici, de l'ensemble de notre travail, les conclusions que l'on peut tirer :

1° Les résultats incomplets des auteurs, comme Finger, Eraud et Hugounenq, Wertheim, Wasserman, Shaeffer et Nicolaysen, dont nous avons relaté les expériences, pourraient tenir à deux causes principales :

A. La biologie du gonocoque.

B. Les conditions insuffisantes des expériences.

Les uns n'ont pas expérimenté avec le gonocoque.

Les autres se sont servis de cultures trop peu virulentes ou bien leur procédé de filtration des cultures, ne permettait pas le passage de la toxine du gonocoque dans le liquide filtré.

2° L'étude de la toxine du gonocoque demande certaines conditions déterminées.

A. Des cultures très virulentes.

B. Un milieu liquide commode et facile à obtenir, à préparer, à stériliser.

C. Un procédé de filtration des cultures qui laisse passer la toxine dans le liquide filtré.

3° Le sérum pur et coagulé de lapin ; le milieu : liquide d'ascite obtenu et préparé comme nous l'avons expliqué ; le procédé de filtration de J. de Christmas, remplissent ces conditions.

4° La toxine du gonocoque produit chez les animaux, chez l'homme, des effets généraux ou locaux, marqués surtout par :

A. Une perte de poids.

B. Une action phlogogène.

Celles-ci sont manifestes et constantes, proportionnelles aux doses injectées.

5° Les injections de toxine du gonocoque confèrent au sérum du lapin, de la chèvre, un pouvoir antitoxique.

6° Le pouvoir antitoxique du sérum de chèvre est progressif. Expérimenté chez le lapin, il prévient la perte de poids, atténue d'un façon très sensible l'action phlogogène dues à la gonotoxine.

7° La valeur thérapeutique de ce sérum est une question prématurée pour le moment, à cause de l'immunisation longue à obtenir chez la chèvre ; il est permis, toutefois d'espérer, dans un avenir plus ou moins prochain, la sérothérapie de la blennorrhagie.

Vu : *Le Doyen,*

P. BROUARDEL

Vu par le Président de la thèse,

P. BROUARDEL

Vu et permis d'imprimer,

*Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,*

GRÉARD



